



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIAS DE CUARTO
NIVEL**

MODALIDAD:

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE
PECTINA DE LA CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma cacao*)**

AUTORES:

ING. YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA

ING. JUAN CARLOS MACÍAS MOREIRA

TUTOR:

ING. FERNANDO ZAMBRANO RUEDAS, M. Sc

COTUTOR:

Mg. CARLOS BANCHÓN BAJAÑA

CALCETA, AGOSTO 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA y JUAN CARLOS MACIAS MOREIRA, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA

JUAN CARLOS MACIAS MOREIRA

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. FERNANDO ZAMBRANO RUEDAS, M. Sc, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PECTINA DE LA CÁSCARA DE CACAO** (*Theobroma cacao*), que ha sido desarrollada por **YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA** y **JUAN CARLOS MACIAS MOREIRA**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. FERNANDO ZAMBRANO RUEDAS, M. Sc

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación “**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PECTINA DE LA CÁSCARA DE CACAO** (*Theobroma cacao*)”, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA y JUAN CARLOS MACIAS MOREIRA**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Ing. Benito Valarezo Valdez, PhD

MIEMBRO

Ing. Sofía Velásquez Cedeño, M. Sc

MIEMBRO

Ing. Ely Sacón Vera, PhD

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios por la fuerza y salud brindada en esta nueva etapa de mí preparación profesional.

A mis padres, hermano, esposa e hijas por ser los pilares fundamentales y por el apoyo incondicional que me brindaron en cada uno de mis objetivos y metas que me he propuesto a lo largo de mi vida profesional.

A mis incondicionales amigos Sandra Mendoza, Diana Pincay y Juan Carlos Macías por los días compartidos, objetivos cumplidos, metas alcanzadas y experiencias vividas.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme fortaleza para seguir adelante.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mi familia en especial a mi Madre y mi hermana Jeanine Emperatriz Macías Moreira, por ser un pilar fundamental en mi vida personal y profesional.

A mis grandes y únicos amigos de maestría, Yandry, Diana, Sandra, por estar conmigo en todo momento de este camino de estudio y preparación.

A la Ing. Cruz Pinargote y al Ing. Teca por siempre facilitarnos los laboratorios para nuestros análisis le extendemos mis sentidos agradecimientos.

JUAN CARLOS MACÍAS MOREIRA

DEDICATORIA

A mis padres, ya que, con el ejemplo, la comprensión y su ayuda he logrado ser el profesional y la persona que en la actualidad soy.

A mis hijas Lizzie y Danna, por ser el motor que me impulsa día a día a ser una mejor persona y para con el ejemplo inculcarles que la mejor arma del ser humano es la educación y la preparación intelectual.

YANDRY JAVIER RENGIFO ALAVA

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a DIOS, quien inspira mi espíritu en todos los momentos de adversidad y está conmigo, para la conclusión de esta tesis de maestría en Agroindustria.

A mi madre quien me dio la vida, educación, apoyo y consejos.

A mi novia Karla Rosario Zambrano Vera, quien ha sido un apoyo emocional en todos estos meses de estudio.

JUAN CARLOS MACÍAS MOREIRA

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vii
CONTENIDO GENERAL	ix
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
PLABRAS CLAVE:.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
KEY WORDS	xiii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. Planteamiento y formulacion del problema.....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Hipótesis.....	3
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Residuos del cacao	4
2.1.1. Industrialización de la cáscara de cacao.....	5
2.1.2. Composición de la cáscara de cacao	5
2.1.3. Fibra cruda	6
2.2. Pectina	7
2.2.1. Clasificación de la pectina.....	8
2.2.2. Métodos de extracción de pectina	9

2.2.3.	Propiedades	10
2.2.4.	Función biológica	11
2.2.5.	Características físico-químicas	11
2.2.6.	Propiedades funcionales	12
2.2.7.	Usos de la pectina	12
2.2.8.	Extracción de pectinas en desechos	13
2.2.9.	Extracción de pectinas de la cáscara de cacao	14
2.3.	Materiales experimentales a emplear	15
2.3.1.	Cáscara de cacao	15
2.3.2.	Fibra en la cáscara de cacao	15
2.3.3.	Insumos para la hidrólisis	15
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO		17
3.1.	Ubicación.....	17
3.2.	Duración	17
3.3.	Métodos y técnicas.....	17
3.3.1.	Variables respuestas.....	17
3.3.2.	Métodos de extracción.....	17
3.3.3.	Análisis físico-químicos y organolépticos	18
3.4.	Factores de estudio	21
3.4.1.	Extracción	21
3.4.2.	Comparación de los métodos	22
3.5.	Tratamientos	22
3.6.	Diseño experimental.....	23
3.7.	Unidad experimental.....	23
3.8.	Manejo del experimento	24
3.8.1.	Hidrólisis ácida	24
3.8.2.	Hidrólisis enzimática	27

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1. Conclusiones	36
5.2. Recomendaciones	36
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	43

CONTENIDO TABLAS Y FIGURAS

TABLAS:

1: Tratamientos para hidrólisis ácida (Combinación de los niveles de los factores)	22
2: Tratamientos para hidrólisis enzimática (Combinación de los niveles de los factores)	22
3: Esquema ADEVA	23
4: Promedio de pectina extraída de cáscara de cacao por métodos ácido y enzimático	30
5: Efectos de los factores y la combinación de ambos en el rendimiento de la pectina en la extracción ácida	31
6: Efectos de los factores y la combinación de ambos en el rendimiento de la pectina en la extracción enzimática	32
7: Cuadro comparativo de los picos de longitud de onda en el espectro infrarrojo de las pectinas extraídas y la pectina comercial (rapid sed)	32
8: Propiedades funcionales de la pectina de la cáscara de cacao	35

FIGURAS:

1: Diagrama de proceso de hidrólisis ácida	26
2: Diagrama de proceso de hidrólisis enzimática	29
3: Longitud de onda del espectro IR en la pectina del método ácido	33
4: Longitud de onda del espectro IR en la pectina del método enzimático	33
5: Longitud de onda del espectro IR en la pectina comercial Rapid set ...	34

RESUMEN

A partir de cáscaras de cacao de la variedad nacional EET103, aplicando dos métodos de extracción: ácido y enzimático se obtuvo pectina, cuyos rendimientos se compararon mediante t-Student para identificar el método más eficiente; adicionalmente se realizaron análisis fisicoquímicos como: solubilidad, capacidad de gelificación, capacidad de hinchamiento, capacidad de retención de agua, capacidad de adsorción de aceite y grado de esterificación, se caracterizó por espectrofotometría infrarroja los grupos funcionales con los picos representativos. La comparación de medias arrojó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los métodos, determinando que la extracción ácida reportó rendimientos más altos; los parámetros fisicoquímicos evidenciaron los siguientes resultados: solubilidad 23,69% en enzimática y 23,40% en ácida. El análisis espectrofotómetro determinó áreas (cm^{-1}) en las pectinas de extracción ácida y enzimática de 1720,47 y 1727,98 respectivamente en los grupo ésteres, 1632,10 y 1600,99 en los grupo ácidos, comparados con 1741,07 y 1637,95 de la pectina comercial, el GE de la pectina fue de 51,31% en ácida y 51,90% en enzimática; los valores se expresaron en $\text{gH}_2\text{O/gpectina}$, CG de 2,28 ácida y 1,35 enzimática, CRA es 1,86 para ácida, 3,21 en enzimático, para CAA es 0,31 para ácida, 0,43 enzimática y la CH en ácida 1,25 y 2,5 en enzimática. Para concluir, el método de extracción ácido obtuvo mayor rendimiento, pero el enzimático proporcionó mejores solubilidades y características funcionales; y los picos de caracterización de los grupos funcionales comparten similitudes con los picos de la pectina comercial.

PLABRAS CLAVE:

Cacao, cáscara, hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática, pectina, rendimiento, solubilidad.

ABSTRACT

From cocoa shells; of the national variety EET103, applying two extraction methods: acid and enzymatic, the objective was to obtain pectin, whose yields were compared by t-Student to identify the most efficient method; additionally, physical-chemical analyses were carried out such as: solubility, gelling capacity, swelling capacity, water retention capacity, oil adsorption capacity and degree of esterification. The functional groups were characterized by infrared spectrophotometry with representative peaks. The mean comparison showed a significant difference ($p < 0,05$) between the methods, determining that the acid extraction reported higher yields; the physical-chemical parameters evidenced the following results: solubility 23,69% in enzymatic and 23,40% in acid. The spectrophotometer analysis determined areas (cm^{-1}) in the acid and enzymatic extraction pectins of 1720,47 and 1727,98 respectively in the esters group, 1632,10 and 1600,99 in the acids group, compared with 1741,07 and 1637,95 in the commercial pectin, the pectin GE was 51,31% in acid and 51,90% in enzymatic; values were expressed in $\text{gH}_2\text{O}/\text{g}_{\text{pectin}}$, GC of 2.28 acid and 1.35 enzymatic, CRA is 1.86 for acid, 3.21 for enzymatic, for CAA is 0.31 for acid, 0.43 enzymatic and CH in acid 1.25 and 2.5 in enzymatic. To conclude, the acid extraction method performed better, but the enzyme provided better solubilities and functional characteristics; and the characterization peaks of the functional groups share similarities with the peaks of commercial pectin.

KEY WORDS

Cocoa, shell, acid hydrolysis, enzymatic hydrolysis, pectin, yield, solubility.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las cáscaras representan el 90% del fruto y son el principal producto de residuo de la industria cacaotera, por tanto, representa un grave problema. Este residuo se convierte en una fuente significativa de enfermedades cuando es usado como abono en las plantaciones (Suárez y Orozco, 2014).

Las cascaras representan un alto porcentaje de desecho en relación a los granos contenidos en ellas, el manejo inadecuado que se le da al mismo, sumado al problema que representa para los cultivos contaminándolos por ser el hábitat perfecto para la proliferación de hongos como: *Phytophthora megakarya*, *P. capsici* y *P. citrophthora* responsables de afectar al fruto en las plantaciones (Badrie, Bekele, Sikora y Sikora, 2015).

Una amplia gama de industrias usa el grano del cacao como materia prima en la producción de diversos productos con fines alimenticios, farmacéuticos, entre otros, generándose una gran cantidad de residuos (cáscaras) que contaminan el medio ambiente (Bravo y Condo, 2015).

Según Romero, Ticono y Dávila (2015) los residuos agroindustriales son materiales de gran importancia en la industria alimenticia, pues, con la aplicación apropiada de tecnologías alternativas, son capaces de generar subproductos como jarabes azucarados que se utilizan en la obtención de otros productos económicamente factibles como el bioetanol.

La abundante información respecto a la extracción de pectinas y de sus usos demuestra la importancia que tiene este compuesto orgánico en la industria (alimenticia principalmente). La gran variedad de materias primas para su obtención y la diferencia en las metodologías implementadas para la misma dan fe de la posibilidad de ampliar el estudio sobre el tema (Betancourt y Llano, 2009).

En los últimos años, ha aumentado el interés en estudiar la modificación de la pectina. Una serie de grupos hidroxilo y carboxilo distribuidos a lo largo de la

cadena principal, así como una cierta cantidad de azúcares neutros presentados como cadenas laterales, hacen que la pectina sea capaz de preparar un amplio espectro de derivados (Barazarte, Sangronis y Unai, 2008).

Por lo expuesto se plantea la siguiente interrogante: ¿Cuál es el porcentaje de pectina a extraer de la cáscara de cacao a través de hidrólisis?

1.2. JUSTIFICACIÓN

El cacao es uno de los productos agroalimentarios de origen neotropical de mayor penetración en el mercado internacional y sus exportaciones en grano han representado más de 71% de volumen producido, situación derivada del alto valor agregado promocionado por la industria del chocolate y sus derivados. En la explotación cacaotera solo se aprovecha económicamente la semilla, que representa aproximadamente el 10% del peso del fruto fresco (Barazarte *et al.*, 2008).

Los hidrolizados de pectinas son muy empleados en industrias alimenticias, farmacéuticas y cosméticas por sus propiedades físicas y funcionales (espesante, gelificantes, texturizante, emulsificantes, retenedores de agua, adsorción de aceites, entre otros), la manera de extracción de la pectina es por dos métodos, estos son hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática.

Debido a la capacidad de las moléculas de pectina de formar geles tienen un sinnúmero de aplicaciones en diferentes industrias; sobre todo las de bajo metoxilo pueden formarlos en presencia de calcio, mientras que las de alto metoxilo gelifican a pH ácido y en presencia de una concentración elevada de azúcar (Pagan, 1999).

En la industria alimentaria, la pectina se usa en mermeladas, jaleas, alimentos congelados y, más recientemente, en alimentos bajos en calorías como un sustituto de grasas o azúcar. En la industria farmacéutica, se usa para reducir los niveles de colesterol en la sangre y los trastornos gastrointestinales. Otras aplicaciones de pectina incluyen el uso en películas comestibles, sustitutos de papel, espumas y plastificantes, etc. Además de la degradación pectolítica, las pectinas son susceptibles a la degradación por calor durante el procesamiento,

y la degradación está influenciada por la naturaleza de los iones y sales presentes en el sistema (Thakur, Singh, Handa y Rao, 1997).

La presente investigación permitirá generar un aporte técnico dentro de la industria cacaotera para modificar sus procesos de producción de residuo.

La utilidad práctica que tiene este proyecto es dar una adecuada disposición final a los residuos de la cáscara de cacao que se genera en el proceso de producción, el cual tiene perspectiva de optimizar dichos residuos (extracción de pectina) para la elaboración de nuevos productos a base de esta materia prima, obteniendo una producción limpia que genere productos de excelente calidad seguros, inocuos y amigables con el medio ambiente permitiendo aumentar la productividad, ganando espacio en el mercado local, nacional y con visión en el internacional.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

-) Evaluar el método más adecuado de extracción en el rendimiento y solubilidad de la pectina a partir de cáscara de cacao.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-) Determinar el mejor método de extracción de pectina de la cáscara de cacao.
-) Caracterizar física y químicamente la pectina extraída.
-) Evaluar las capacidades funcionales de la pectina.

1.4. HIPÓTESIS

Los métodos de extracción afectan el rendimiento y solubilidad en la obtención de pectina de la cáscara de cacao.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. RESIDUOS DEL CACAO

En Ecuador los residuos sólidos acumulados ascienden a 6000 Kg por día, los generados en las actividades agrícolas y forestales están dentro de este rubro, los residuos orgánicos son retirados como desecho común para que no interfieran en los procesos de producción, esto se debe al desconocimiento de alternativas tecnológicas para el manejo o la reutilización de los residuos agroindustriales de manera efectiva (Guanga, 2018).

Además, manifiesta que resulta necesario aportar en la preservación del medio ambiente, a través de alternativas viables como sustancias nitrogenadas, grasas, cenizas, fibras, combustible, harina, abono, infusiones medicinales, carbón activado y demás derivados que se pueden obtener de los residuos del cacao.

El autor anteriormente mencionado asevera que los procedimientos que conllevan a la transformación de residuos en elementos útiles están generando interés en la investigación para generar subproductos de los residuos de la industria para generar un impacto ambiental positivo y disminuir la explotación de los recursos naturales del planeta.

La cáscara de cacao es un desecho que rara vez es aprovechado por los agricultores y mucho menos por las fábricas, la generación de subproductos o residuos agroindustriales en las diferentes etapas de los procesos productivos, es actualmente una problemática a nivel mundial, debido a que en la mayoría de los casos no son procesados o dispuestos adecuadamente, situación que contribuye al proceso de contaminación ambiental (Vargas y Pérez, 2018).

Los autores antes citados afirman que los residuos agroindustriales poseen un alto potencial para ser aprovechados en diferentes procesos que incluyen elaboración de nuevos productos, aportando valor agregado a los productos originales y recuperar condiciones ambientales.

Además, indican que la mayoría de los residuos agroindustriales son de naturaleza lignocelulósica, posibilitando la extracción de polímeros como la celulosa y lignina para ser utilizadas como materia prima en diferentes procesos. Otro residuo agroindustrial aprovechado para este fin, es la obtención de celulosa a partir de bagazo de caña (*Saccharum spp.*) mediante un tratamiento químico de hidrólisis ácida (sulfúrica) a las fibras de celulosa. Como resultado se generó 48% de rendimiento, estableciendo finalmente que las características de la fibra celulosa le permitirán actuar como refuerzo en materiales compuestos, además de representar una fuente promisoría en la producción de biomateriales y papel.

Siendo Ecuador uno de los mejores exportadores de cacao en el mundo, por falta de innovación y desarrollo carece de una agroindustria que transforme o genere valor agregado a los desechos, por medio de alternativas viables que aprovechen la cáscara de cacao que se genera como consecuencia de la actividad productiva (Guanga, 2018).

2.1.1. INDUSTRIALIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE CACAO

Se han propuesto diversas aplicaciones para el uso de la cáscara de la mazorca de cacao entre las que se destacan el aprovechamiento como alimento para animales de granja, aunque presenta baja digestibilidad y precursor para la elaboración de sales de potasio para jabón; como adsorbentes de bajo costo para tratamiento de agua contaminada, lo cual es relevante, ya que presenta solución a dos problemáticas: disminución del impacto ambiental de los desechos y reducción de costos en la producción de adsorbentes (Ardila y Carreño, 2011).

2.1.2. COMPOSICIÓN DE LA CÁSCARA DE CACAO

Se analizaron químicamente cáscaras de fruto de cacao provenientes de la Península de Paria con la finalidad de desarrollar técnicas y procedimientos que permitan la utilización comercial de estos desechos, y evaluar su posible uso en la elaboración de piensos para la alimentación de animales de corral. Los resultados obtenidos en cuanto a su composición fueron: proteínas 8,69%, grasas 1,40%, materia orgánica 60,14% y minerales, es decir que tienen

potencial para la elaboración de dietas para animales y como fertilizante orgánico de numerosos cultivos (Crescente, Acosta, Guevara y Estaba, 1999).

Sánchez (2013) indica también que las cáscaras de cacao constituyen un subproducto, que puede ser utilizado en la alimentación animal, fertilización de plantas y como materia prima para biodigestores. Estos usos han sido propuestos tomando en cuenta la composición química de la cáscara: 27% de fibra cruda, 6,25% de proteína cruda con 35,5% de nitrógeno disponible total y 3,2% de potasio.

2.1.3. FIBRA CRUDA

La fibra es el compuesto que conforma la estructura de las plantas, encontrándose en alimentos de origen vegetal. La fibra dietética corresponde a los polisacáridos y lignina resistentes a la digestión enzimática gastrointestinal. Según su hidrosolubilidad puede clasificarse como insoluble (FDI) relacionada con el mejoramiento del tránsito intestinal; y soluble (FDS) presente principalmente en frutas y asociada con la reducción de colesterol y glucosa (Morales, Nieto, Quiroga y Quicazan, 2012).

Los efectos fisiológicos de las fibras dietéticas varían según su capacidad de disolverse en el agua; son consideradas (FDS) las pectinas, gomas, mucílagos, ciertos tipos de hemicelulosa soluble y polisacáridos de reserva de la planta y (FDI) la celulosa, lignina y algunas fracciones de la hemicelulosa. La composición química de las fibras dietéticas, en las frutas y vegetales, es compleja y heterogénea, de las cuales la pectina, celulosa, hemicelulosa y lignina son las más importantes; el cálculo de estos constituyentes químicos es complejo y laborioso (Arroyo, Carrasco, Bueno, Cardeña y Luízar, 2008).

La fibra de cacao mostró ser una excelente fuente de fibra dietética, con un alto contenido de fibra total, superior al 60% de masa seca, con predominio de fracción insoluble (83%). Esta fibra contuvo sólo 1,15% de polifenoles, con reducidos valores de capacidad antioxidante (Lecumberri *et al.*, 2006).

) FIBRA SOLUBLE

En contacto con el agua forman un retículo donde queda atrapada, originándose soluciones de gran viscosidad. Los efectos de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte su potencial anti carcinogénico. Está compuesta por pectinas, gomas, mucilagos y algunas hemicelulosas (Baena y García, 2012).

) FIBRA INSOLUBLE

Son poco solubles capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad; esto produce un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal. También contribuye a disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon. Está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina (Baena y García, 2012).

2.2. PECTINA

Las pectinas son polisacáridos de alto peso molecular que forman polímeros de unidades de ácido D-galacturónico unidas por enlaces glicosídicos (1 4), cuyos grupos carboxilo están parcialmente esterificados con metanol y en algunos casos con etanol, las cadenas de la pectina están interrumpidas por unidades de L-ramnosa unidas por enlaces glicosídicos (1 2), aunque también se pueden encontrar unidades de galactosa, arabinosa, glucosa y xilosa, generalmente en forma de cadenas laterales cortas (Valenzuela, Ortiz y Pérez, 2014).

Según los autores anteriores afirman que las pectinas se solubilizan en agua formando soluciones viscosas y en condiciones apropiadas son capaces de formar geles, este comportamiento varía en función del número de grupos carboxilo esterificados con metanol. De esta manera, las pectinas con más del 50% de los grupos carboxilo metoxilados (pectinas de alto metoxilo) forman geles a pH entre 2,8 y 3,5 con un contenido de sólidos solubles cercano al 65%; mientras que las pectinas con esterificaciones menores al 50% (pectinas de bajo metoxilo) requieren la presencia de cationes divalentes para formar el gel.

De acuerdo a lo afirmado por Bravo y Condo (2015) la pectina varía su composición según su origen, las condiciones empleadas para su extracción o parámetros como el peso molecular. La estructura de la pectina es complicada de determinar debido a que la pectina puede alterarse durante el proceso de separación, almacenamiento y procesamiento de la materia prima.

Según Ortiz y Anzola (2018) cuando se consume pectina de forma regular, se obtiene un efecto benéfico en la salud ya que disminuye los niveles séricos de lípidos y glucosa, ayudando a prevenir enfermedades como diabetes y dislipidemias. Estas propiedades hacen a la pectina idónea para enriquecer en fibra soluble alimentos de alto consumo, como la arepa de maíz, en grupos poblacionales donde los carbohidratos prevalecen en la dieta diaria debido a su bajo costo y fácil disponibilidad.

2.2.1. CLASIFICACIÓN DE LA PECTINA

Se pueden clasificar en alto metoxilo y bajo metoxilo. Esta clasificación se realiza en base a su grado de metoxilación, siendo este término el número de funciones carboxílicas que han sido metoxilados en cada 100 grupos de ácido galacturónico. La separación entre pectinas de alto y bajo metoxilo es arbitraria. En términos prácticos, el 7% de metoxilos se considera como el 50% de esterificación y se toma como índice de separación para las pectinas de alto y bajo metoxilo (Nizama, 2015).

) PECTINAS DE ALTO METOXILO

Son aquellas pectinas que contienen entre el 50% y 80% de los grupos carboxílicos esterificados con metoxilo, lo cual le permite ser soluble en agua. Este tipo de pectinas requieren de grandes cantidades de azúcar (55 - 85%), un pH bajo (2,0 - 4,5) y elevada temperatura para formar gel con características rígidas y sólidas que los geles de pectinas con bajo metoxilo, pero estas pectinas sufren rápidas degradaciones en medios alcalinos (Correa, Garza, Rodríguez, Aguilar y Contreras, 1999).

) **PECTINAS DE BAJO METOXILO**

Las pectinas de bajo metoxilo son aquellas que usualmente contienen de un 25% al 50% de esterificación. Este tipo de pectinas pueden formar geles con o sin azúcar, en presencia de iones metálicos polivalentes, como el calcio, y en un amplio rango de pH (2,8 - 6,5), lo cual es una considerable ventaja de uso frente a las pectinas de alto metoxilo, pero las características de gel, como firmeza, plasticidad y resistencia al calor, son inferiores a la de las pectinas de alto metoxilo (Chasquibol, Arroyo y Morales, 2008).

2.2.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PECTINA

Existen diversos métodos para la extracción de pectina a partir de tejidos vegetales, en las cuales pueden utilizarse procedimientos físico-químicos o enzimáticos, habiéndose considerando diversas variables: pH, temperatura, tiempo, concentración de fructooligosacáridos (FOS) y tipo de ácido para la hidrólisis química; así como el tipo de enzima, tiempo de hidrólisis, concentración de sustrato y concentración de enzima para la hidrólisis enzimática (Chirinos, Mendoza, Aguilar y Campos, 2017).

) **EXTRACCIÓN ÁCIDA DE PECTINAS**

La extracción de pectinas por hidrólisis ácida se lleva a cabo a temperaturas cerca de los 90°C por al menos una hora. Las pectinas consecutivamente se extraen y separan de los desechos de diversos frutos mediante acidificación; se lo realiza usando ácidos como el cítrico, clorhídrico, fosfórico, nítrico o sulfúrico; posteriormente después de concentrarlas, se precipitan con la adición de alcohol, se seca, se granula y por último se tamiza. La extracción de las trazas de pectinas después del proceso anterior se lo realiza en soluciones acuosas ácidas no sensibles al calcio, siempre y cuando sean sensibles al calcio, se realiza otra extracción con ácidos fuertes (Aza y Méndez, 2011).

) **EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DE PECTINAS**

Existen pocos trabajos sobre extracción enzimática de pectinas. El método enzimático emplea pectinesterasa o pectinmetilesterasa, que convierte a las

pectinas de alto metoxilo en pectinas de bajo metoxilo sin la despolimerización de la molécula de pectina (Bravo y Condo, 2015).

Uno de estos procesos es la hidrólisis enzimática, que aporta significativos beneficios en la industria alimentaria por los efectos físicoquímicos u organolépticos que produce, tales como la disminución de la viscosidad, mejora de la filtrabilidad, disminución de la tendencia a la cristalización, clarificación y estabilización de los líquidos con vistas a su conservación, insolubilización de macromoléculas por formación de coágulos, mejora en la fermentabilidad, mejora de la estabilidad bacteriológica entre otros (Romero, Tinoco y Dávila, 2015).

La técnica parte de la deshidratación por solvente (etanol) o estufa del material vegetal. Se utilizan las siguientes enzimas endo-polisacaridasas: endo-poligalacturonasa (*Aspergillus niger*), endo-celulasa (*Trichoderma Sp.*) y endo-arabinasa (*A. niger*). La degradación enzimática se da bajo las siguientes condiciones: 80 mL de amortiguador ácido cítrico-citrato de sodio 50 mM, pH 4,5 en un reactor enchaquetado de mezclado ideal a 40°C. Luego se agregan 8 µL de enzima altamente purificada y posteriormente se agregan 2 g de material vegetal. La reacción se mantiene bajo agitación constante durante 12 h. Al término de la reacción la suspensión se filtra a través de tela muselina. El material vegetal tratado se lava con agua y deshidrata con solventes orgánicos. La pectina contenida en el jugo péctico se precipita con dos volúmenes de etanol y separa por filtración (Cárdenas *et al.*, 2012).

2.2.3. PROPIEDADES

La pectina es un sólido blanco o ligeramente amarillento, soluble en agua caliente hasta 2 - 3%. En el agua la pectina forma grumos viscosos por fuera y secos por dentro, por esta razón la pectina se mezcla siempre con azúcar, sales amortiguadoras o se humedecen con etanol antes de añadir agua. La pectina es un coloide reversible, puede ser disuelto en agua, precipitado, secado y disuelto en agua sin perder sus propiedades físicas (Muñoz, 2011).

2.2.4. FUNCIÓN BIOLÓGICA

Muñoz (2011) define a las sustancias pécticas como un contribuyente de la adhesión entre las células y el mecanismo de fuerza de la pared celular, a través de su habilidad para formar geles estabilizantes tienen un importante papel en el crecimiento de las células de las plantas; cumplen también otras funciones, entre ellas, el que estén involucrados en las interacciones entre plantas y agentes patógenos; un importante papel como fibra nutricional e interesantes propiedades terapéuticas.

2.2.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Según Espinoza y Méndez (2011) químicamente, la pectina consiste en cadenas largas y no ramificadas de ácido poli galacturónico, con los grupos carboxilos parcialmente esterificados con alcohol metílico. El principal constituyente de los polisacáridos pécticos es el ácido galacturónico unido en cadenas por medio de enlaces glicosídicos alfa (1 - 4). El principal componente de la pectina es el ácido galacturónico parcialmente metilado.

La pectina varía su composición según su origen, las condiciones empleadas para su extracción, parámetros como el peso molecular o el contenido de subunidades particulares difieren de molécula a molécula. La estructura de la pectina suele ser muy difícil de determinar debido a que la pectina puede cambiar durante la separación, almacenamiento y procesamiento de la materia prima (Ortiz y Anzola, 2018).

Se observa que las pectinas del estado verde contienen mayor porcentaje de metoxilos decreciendo a medida que el fruto va madurando, las pectinas tienen una tendencia a disminuir su metoxilación como consecuencia de la existencia de pectinesterasa naturales del fruto, las que eliminan el radical metoxilo de la cadena de ácido galacturónico convirtiéndola de alto a bajo metoxilo ocasionando un ablandamiento del fruto a medida que avanza el proceso metabólico del mismo (Paredes, Hernández y Cañizares, 2015).

2.2.6. PROPIEDADES FUNCIONALES

) CAPACIDAD DE HIDRATACIÓN

Las propiedades de hidratación determinan en gran medida el destino de la fibra dietaria en el tracto digestivo y representan algunos de los efectos fisiológicos. Las fibras solubles como la pectina, los β -glucanos, algunas hemicelulosas, la goma de acacia y entre otros, forman con el agua un retículo, lo que origina soluciones de gran viscosidad que atrapan moléculas de grasa y evitan el contacto con las sales biliares resultando en modificación del metabolismo lipídico, disminución de lipoproteínas formadoras de placas, reducción del colesterol y disminución de glucosa postprandial (Vilcanqui y Vílchez, 2018).

Los autores mencionados reportan la propiedad de hidratación expresada en la capacidad de absorción del agua (CAA), capacidad de retención del agua (CRA) y la capacidad de hinchamiento (CH), propiedades que proveen información útil para las aplicaciones tecnológicas, funcionales y nutricionales.

) CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE MOLÉCULAS ORGÁNICAS

La capacidad de adsorción de grasa es otra de las propiedades importantes de la fibra dietaria con fines de estabilización de emulsiones en el procesamiento de alimentos con alto contenido de grasa, al igual que para observar los efectos fisiológicos en humanos. La capacidad de adsorción de grasa se cuantifica por la adición a la muestra seca de la fibra un exceso de aceite, homogenizado; luego por el centrifugado. Por diferencia de pesos se obtiene el valor de esta propiedad (Vilcanqui y Vílchez, 2018).

2.2.7. USOS DE LA PECTINA

Según Rodríguez y Román (2004), la pectina no solo es importante como componente de las frutas, sino que además presenta diversos usos en la industria:

J **INDUSTRIA ALIMENTICIA**

Fabricación de jaleas (gelatinas) y conservas, como espesante en la mayonesa, precipitación de la caseína de la leche, como estabilizador en los sorbetes, preparación de jugos (Rodríguez y Román, 2004).

J **INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

Coagulante sanguíneo, emulsificante de preparados farmacéuticos, como antídoto en intoxicaciones con metales pesados, preparación de medios de cultivo bacteriológico, como agente suspensor, en la fabricación de cosméticos (Rodríguez y Román, 2004).

2.2.8. EXTRACCIÓN DE PECTINAS EN DESECHOS

Las pectinas son extraídas de las cáscaras de cítricos y manzana mediante un proceso físico-químico compuesto por varias etapas, iniciando con una extracción mediante un mineral diluido, caliente y ácido, finaliza con la recuperación y purificación por precipitación con alcohol. La extracción es muy importante en la recuperación de las pectinas, de las condiciones aplicadas depende su calidad, igualmente, la composición química es afectada por la fuente vegetal de extracción (Guerrero, Suárez y Orozco, 2017).

Las industrias agroindustriales son una potencial fuente de adquisición de residuos como materia prima para la extracción de pectinas, en la cual se crea la necesidad de utilizar estas extracciones como aditivos en procesos alimenticios, los cuales se demuestran en rendimientos obtenidos por autores como Chávez (2018) que afirma que el mayor rendimiento de pectina se obtiene cuando se emplea agua acidulada con HCl, obteniendo un rendimiento de 15,6% de pectina, pero este valor se obtiene cuando la fruta se encuentra en su estado de maduración verde, la pectina extraída de una fruta como la manzana o cáscaras de cítricos, varían principalmente según el grado de madurez de la fruta, del proceso de extracción y condiciones de almacenamiento de la pectina obtenida.

2.2.9. EXTRACCIÓN DE PECTINAS DE LA CÁSCARA DE CACAO

Betancourt y Llano (2009) determinaron que el contenido de pectinas en la mazorca y la cascarilla del cacao tiene mucha influencia el pH, tiempo de hidrólisis y tiempo de cocción sobre el rendimiento y grado de esterificación para el proceso de extracción de pectina, a partir de subproductos del beneficio del cacao.

Se ha reportado en estudios de otros autores que las pectinas de cascarilla de cacao son influenciadas por el pH en las condiciones de extracción, siendo de bajo metoxilo cuando se realiza a pH ácidos, esto debido probablemente a que la extracción en ácido caliente causa desmetilación y la fragmentación de la cadena del ácido poli galacturónico (Guerrero, Suárez y Orozco, 2017).

2.3. MATERIALES EXPERIMENTALES A EMPLEAR

2.3.1. CÁSCARA DE CACAO

La cáscara de cacao representa el mayor subproducto de la industria chocolatera a nivel mundial. Actualmente han aumentado estudios relacionados para este tipo de residuos y su posible utilización, debido a que estos representan un importante componente de los residuos agrícolas y desechos agroindustriales en el mundo, constituyendo una buena fuente de recursos renovables y energía. Internacionalmente se viene desarrollando posibles usos de la cáscara de cacao, como fuente de fertilizantes de suelos, alimento para aves y animales, fuente de pectinas y gomas, elaboración de carbón activado y obtención de fibra dietaria (Baena y García, 2012).

2.3.2. FIBRA EN LA CÁSCARA DE CACAO

La cáscara y cascarilla del cacao se encuentran en un rango de 33 a 66%, comparados con otras fuentes como harina de piña y leguminosas como la soya, arveja amarilla y frijol blanco que están en un rango de 11,57 a 25,31% de fibra dietaria total (FDT). En la realización de un balance de fibra dietaria insoluble (FDI)/fibra dietaria soluble (FDS) se puede determinar que disminuye a lo interno de los tejidos de los frutos, mientras más exterior es el tejido mayor es el contenido de FDI (Abarca, Martínez, Muñoz, Torres y Vargas, 2010).

2.3.3. INSUMOS PARA LA HIDRÓLISIS

A continuación, se presenta el listado de los materiales y equipos que serán empleados para el desarrollo de esta investigación (Betancourt y Llano, 2009).

) REACTIVOS Y MATERIAL VEGETAL PARA HIDRÓLISIS ÁCIDA

- Agua desionizada.
- Alcohol etílico al 96%.
- Ácido clorhídrico al 1 N
- Hidróxido de sodio en escamas
- Cáscara de cacao.

J REACTIVOS Y MATERIAL VEGETAL PARA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

- Agua desionizada.
- Alcohol etílico al 96%.
- Ácido clorhídrico al 1 N
- Hidróxido de sodio en escamas
- Cáscara de cacao.
- Enzima pectinasa.

J EQUIPOS PARA LOS DOS MÉTODOS

- Plancha de calentamiento.
- pHmetro.
- Balanza electrónica.
- Licuadora.
- Centrifuga.
- Horno.
- Espectrofotómetro infrarrojo.
- Beaker de 2 L.
- Agitador magnético.
- Pipeta 10 mL.
- Termómetro.
- Buretas 50 mL.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se la realizó en el laboratorio de química de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador sede Manabí (PUCEM) de la carrera de Agroindustria, geográficamente ubicada a 0°37'54.619'' de Latitud Sur y 80°2'23.676'' de Longitud Oeste.

Los análisis físicos y funcionales se los realizaron en los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM-MFL), geográficamente ubicada a 0°49'33.645'' de Latitud Sur y 80°10'56.799'' de Longitud Oeste.

Los análisis de identificación química de las pectinas obtenidas se las realizaron en la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), geográficamente ubicada a 4°3'47.206'' de Latitud Sur y 78°56'57.715'' de Longitud Oeste.

3.2. DURACIÓN

Esta investigación se llevó a cabo en un tiempo aproximado de 6 meses.

3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS

3.3.1. VARIABLES RESPUESTAS

-) Y1: Rendimiento
-) Y2: Solubilidad de la pectina

3.3.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

-) **MÉTODO HIDRÓLISIS ÁCIDA**

Aza y Méndez (2011) expresaron que la extracción de pectinas por hidrólisis ácida se llevó a cabo a temperaturas cerca de los 80°C por al menos una hora como se aprecia figura 1. Las pectinas consecutivamente se extrajeron y separaron de los desechos de diversos frutos mediante acidificación; se lo realizó usando ácidos como el cítrico, clorhídrico, fosfórico, nítrico o sulfúrico; posteriormente después de concentrarlas, se precipitó con la adición de

alcohol, se secó, se granuló y por último se tamizó. La extracción de las trazas de pectinas después del proceso anterior se lo realizó en soluciones acuosas ácidas no sensibles al calcio, siempre y cuando sean sensibles al calcio, se realizaría otra extracción con ácidos fuertes.

J **MÉTODO HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

Según lo descrito por Mendoza, Jiménez y Ramírez (2017), en la técnica de extracción enzimática realizado a escala de laboratorio como se detalla en la figura 2, en un beakers de 1000 mL, se agregaron 170 μ L, del complejo enzimático comercial, por cada 200 g de material vegetal; de acuerdo a la ficha técnica de aplicación del fabricante, se utilizó un rango de 0,2 a 1 kg, por cada tonelada de materia prima, por lo cual, se calcularon para 200 g de cáscara de cacao, a una temperatura de entre 40 y 50°C y pH de 5. El tiempo de extracción fue de 60 y 120 minutos, la precipitación de la pectina se realizó con etanol al 96%, adicionando 80% del volumen de la solución péctica, por 30 minutos; la pectina, se filtró en tela muselina y se secó en estufa, hasta obtener peso constante

3.3.3. **ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y ORGANOLÉPTICOS**

Una vez obtenidos los mejores rendimientos de cada método de extracción se analizaron las características físico-químicas y organolépticas de las muestras.

J **SOLUBILIDAD DE LA PECTINA**

Se midieron con una pipeta 10 mL de agua y se colocaron en un vaso de 100 mL y añadieron de 1 g de la muestra (pectina) y agitaron con una varilla. Se introdujo el vaso con la solución en otro vaso de 1000 mL que contiene agua para baño maría. Se calentaron en una plancha de calentamiento hasta que la temperatura alcanzó los 55°C, se debe mantener una parte no disuelta en la solución. Se retiraron los vasos de 100 mL con la solución y el exceso de soluto (parte no disuelta), agitando fuertemente comprobando que el exceso no se disuelva. Se vertió el líquido de la solución saturada de ambas pectinas en un vaso de precipitación previamente pesado (M1) y se colocaron en la balanza donde se obtuvo el valor del vaso más el líquido (M2). Se colocó nuevamente

en la plancha de calentamiento y se esperó a que se evapore el agua (solvente) de la solución contenida en el vaso de precipitación hasta que se forme un sólido blanco (sólido). Se esperó a que se enfriaran los vasos de precipitación y se pesaron con el sólido (M3). Los resultados se expresan en relación al porcentaje de sólido presente en solvente, utilizando la ecuación 1.

$$S = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_3} * 100 \quad [1]$$

Donde:

Masa del sólido = $M_3 - M_1$

Masa de solvente = $M_2 - M_3$

) **ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA (IR)**

Se tomó una muestra de cada una de las pectinas extraídas, se las colocó en la base del lector del espectro infrarrojo, se activó el equipo y se tomaron los resultados de la lectura del software sobre la longitud de onda en cada muestra. El equipo que se utilizó para la obtención de los resultados en este análisis fue FT-IR, marca Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10.

) **GRADO DE ESTERIFICACIÓN (GE)**

El grado de esterificación (GE) de la pectina extraída por los dos métodos se determinaron por espectrofotometría de infrarrojo, donde se utilizó un FT-IR, marca Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10. El espectro obtenido fue comparable en su perfil al de un espectro de pectina comercial. Para determinar el GE se utilizó la relación del área de la banda correspondiente a los grupos carboxilos y el área de los grupos esterificados, aplicando la ecuación 2 utilizada por Rascón, Martínez, Carvajal, Martínez y Campa (2016) en su trabajo.

$$G = \left(\frac{A_{gce}}{A_{gce} + A_{gcne}} \right) * 100 \quad [2]$$

Donde:

GE: Grado de Esterificación

A_{gce} : Área de grupo carboxílico esterificados.

A_{gcn} : Área de grupo carboxílico no esterificados.

) **CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN**

Se utilizaron muestras de las pectinas extraídas en una relación de 10% del volumen total (10 mL de agua destilada) se colocaron en tubos de ensayos y luego agitaron por 5 minutos. Los tubos fueron calentados en baño maría a 90°C durante 30 minutos y luego colocados en agua fría (4-6°C) por 30 minutos. La capacidad de gelificación se calculó tomando la mínima concentración añadida en la cual, la solución proteica contenida en los tubos no drenó ni cayó cuando se invirtió en su posición, según la ecuación 3, expresada en $g_{H_2O}/g_{pectina}$.

$$C = P_1 - P_2 \quad [3]$$

Donde:

P_1 = Peso de la muestra seca (g)

P_2 = Peso de la muestra gelificada (g)

) **CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)**

Se agitó en un tubo de centrifuga de 50 mL un gramo de muestra con 40 mL de agua destilada por 5 minutos, esta mezcla fue luego centrifugada a temperatura ambiente a 3000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante fue vertido en una probeta de 50 mL. El cálculo de la CRA fue estimado en base a la diferencia entre el volumen inicial y el sobrenadante obtenido luego de la centrifugación. El resultado fue reportado en base a mililitros de agua retenida por gramo de proteína, utilizando la ecuación 4.

$$C = P_1 - P_2 \quad [4]$$

Donde:

P_1 = Peso húmedo de pectina (g)

P_2 = Peso seco de pectina (g)

) **CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE ACEITE (CAA)**

Se colocaron 0,1 g de fibra en un tubo. Se adicionó un exceso de aceite (5 mL) y se agitó durante 30 minutos, se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm. Se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento. Los resultados se expresaron en gramos de aceite sobre gramos de muestra, utilizando la ecuación 5.

$$C = P_1 - P_2 \quad [5]$$

Donde:

P_1 = Peso sedimento de pectina (g)

P_2 = Peso seco de pectina (g)

) **CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO**

Se determinó midiendo el volumen que ganó la muestra después de alcanzar un equilibrio con un exceso de disolvente. En lo que se utilizó 0,4 g de fibra para proceder a medir el volumen que ocupó en una probeta de 10 mL, luego se le adicionaron 5 mL de buffer de fosfato 0,08 M, pH 6,1 se agitó y dejó en reposo por 24 h a temperatura ambiente posteriormente se midió el volumen final de la muestra, utilizando la ecuación 6 y expresándolo en mL_{H2O}/g_{pectina}.

$$C = \frac{V_f - V_o}{P_m} \quad [6]$$

Donde:

V_f = Volumen final.

V_o = Volumen inicial

P_m = Peso de la muestra

3.4. FACTORES DE ESTUDIO

3.4.1. EXTRACCIÓN

) HIDROLISIS ÁCIDA

Factor a (pH)

a1: 1,5

a2: 2,5

Factor b (tiempo de cocción)

b1: 20 min

b2: 30 min

J) HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Factor c (Tiempo)

c1: 60 min

c2: 120 min

Factor d (Temperatura)

d1: 40°C

d2: 50°C

3.4.2. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS

Factor a (Hidrólisis ácida)

Factor b (Hidrólisis enzimática)

3.5. TRATAMIENTOS

Tabla 1: Tratamientos para hidrólisis ácida (Combinación de los niveles de los factores)

Tratamientos	Código	Descripción
T1	a1b1	(pH 1,5) (20 min.)
T2	a1b2	(pH 1,5) (30 min.)
T3	a2b1	(pH 2,5) (20 min.)
T4	a2b2	(pH 2,5) (30 min.)

Tabla 2: Tratamientos para hidrólisis enzimática (Combinación de los niveles de los factores)

Tratamientos	Código	Descripción
T1	c1d1	(60 min.) (40°C.)
T2	c1d2	(60 min.) (50°C.)
T3	c2d1	(120 min.) (40°C.)
T4	c2d2	(120 min.) (50°C.)

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Como se muestra en la tabla 3, el experimento se desarrolló bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial A x B, con un total de 4 tratamientos por métodos y 3 repeticiones por tratamientos. Los datos obtenidos fueron sometidos a los supuestos del ANOVA (normalidad Shapiro Wilk y homogeneidad Test de Levene) con un $\alpha=0,05$, al cumplirse los supuestos se realizó el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95% y la separación de medias por Tukey al mismo nivel de confianza para cada uno de los métodos de extracción. Finalmente, por medio de T-Student se compararon los métodos de extracción de pectina y se determinó el más eficiente, donde se utilizó el programa estadístico INFOSTAT versión libre 2018I.

Tabla 3: Esquema ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Factor a	1
Factor b	1
Interacción a*b	1
Error	8
Total	11

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para este estudio se tomaron 200 g de cáscara cacao. Se recolectaron cáscaras de mazorcas maduras de cacao de la variedad tipo Nacional clon EET-103, las mismas que fueron lavadas y trasladadas al laboratorio donde fueron procesadas.

3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.8.1. HIDRÓLISIS ÁCIDA

) DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

○ PREPARACIÓN DEL MATERIAL

Se pesaron 200 g de material sólido en una báscula, se lavaron con agua para eliminar excesos de suciedad, y luego se cortaron en trozos pequeños para facilitar el licuado. Se licuaron junto con 500 mL de agua a su máxima velocidad durante 3 minutos (anexo 1).

○ COCCIÓN

La mezcla se sometió a un proceso de cocción a una temperatura de 95°C utilizando un beaker y una plancha de calentamiento. Este procedimiento tiene como fin inhibir la acción de las enzimas pécticas presentes en el material, especialmente la pectinasa (enzima degradante de la pectina), además de microorganismos presentes en el material seleccionado. Una vez cumplido el tiempo de cocción se introdujo el beaker con la mezcla en un recipiente con agua fría evitando extender el tiempo determinado para el ensayo.

○ AJUSTE DE pH

Se ajustó el pH de la mezcla a los niveles establecidos (1,5 - 2,5) empleando un medidor de pH digital y ácido clorhídrico al 1N.

○ HIDRÓLISIS

Una vez fijado el pH, la mezcla se sometió a un proceso de hidrólisis ácida a una temperatura de 80°C empleando una plancha de calentamiento. Una vez cumplido el tiempo de extracción se introdujo el beaker con la mezcla en agua fría cortando rápidamente la reacción, evitando sobrepasar el tiempo establecido para la misma.

○ FILTRACIÓN

La mezcla hidrolizada se filtró a través de una tela fina, separando el material sólido de la fase líquida en la cual se encontraba disuelta la pectina.

- **PRECIPITACIÓN**

La fase acuosa resultante del proceso de filtrado se precipitó utilizando etanol comercial al 96%. La cantidad empleada de este último corresponde al 80% del volumen de filtrado obtenido, el cual fue, en promedio, de 400 mL.

- **SEPARACIÓN**

Se separó la pectina precipitada utilizando un embudo y tela liencillo. Luego de la separación se obtuvo la pectina (húmeda) y una mezcla etanol-agua. El etanol obtenido luego de dicha separación se recuperó mediante destilación.

- **PURIFICACIÓN**

Con el fin de eliminar impurezas y trazas de HCl que afecten la solubilidad y el aspecto de la pectina, se llevó a cabo un proceso de purificación. El proceso consta de los siguientes pasos:

Se disolvió nuevamente en un beaker con 300 mL de agua la pectina obtenida en la primera centrifugación.

Se filtró y recuperó el sobrenadante en el cual se encuentra disuelta la pectina.

Se precipitó la pectina disuelta utilizando etanol comercial al 96% y empleando la misma relación de volumen de la primera precipitación. Se filtró nuevamente la pectina purificada.

- **SECADO**

La pectina se secó en una estufa a una temperatura de 40°C durante 180 minutos. Luego se esparció de manera uniforme sobre una caja Petri previamente pesada con el fin de determinar la cantidad de pectina obtenida mediante la diferencia entre el peso final e inicial.

- **RENDIMIENTO**

Los rendimientos reportados se calcularon en base seca. Se realizaron la deshidratación de la cáscara de la mazorca del cacao hasta que se obtuvo un peso constante, con el fin de determinar el peso seco en 200 g iniciales de material sólido.

DIAGRAMA DE FLUJO

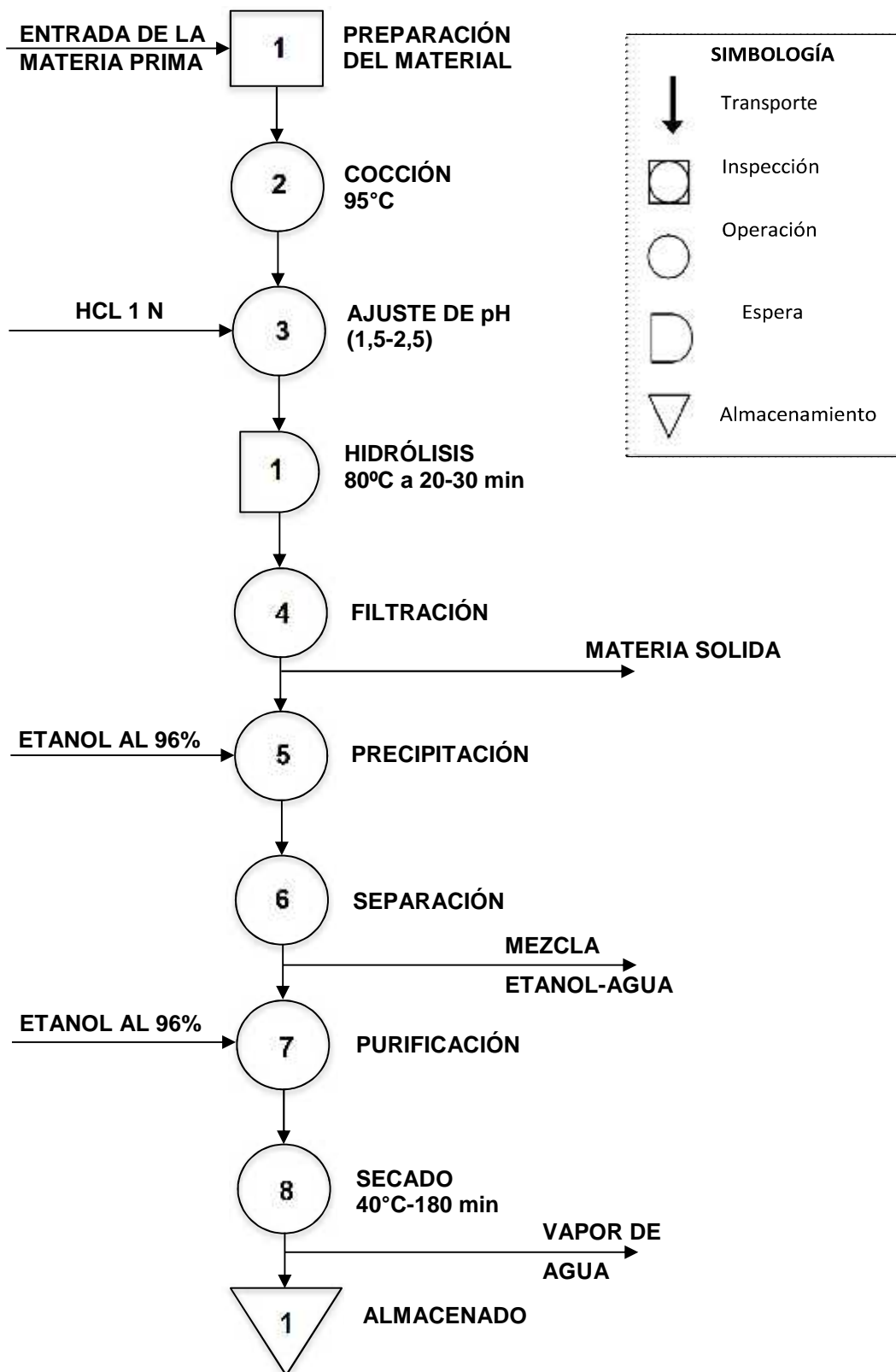


Figura 1: Diagrama de proceso de hidrólisis ácida

3.8.2. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

) DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

○ PREPARACIÓN DEL MATERIAL

Se tomaron 200 g de cáscara de cacao, se lavó y troceó en cubos pequeños para facilitar el licuado. Se licuó junto con 500 mL de agua a su máxima velocidad durante 3 minutos (anexo 2).

○ AJUSTAR pH

Se ajustó el pH de la mezcla a los niveles establecidos (5) empleando un medidor de pH digital y ácido clorhídrico al 1 N.

○ CALENTAMIENTO

Se llevó a 40-50°C la dilución según el tratamiento.

○ APLICACIÓN DE LA ENZIMA

Se adicionaron 170 µL del preparado enzimático y se homogenizó. Se dejó en reposo por 60 y 120 minutos según el tratamiento.

○ FILTRACIÓN

La mezcla hidrolizada se filtró a través de una tela fina, separando el material sólido de la fase líquida en la cual se encuentra disuelta la pectina.

○ PRECIPITACIÓN

La fase acuosa resultante de proceso de filtrado se precipitó utilizando etanol comercial al 96%. La cantidad empleada de este último corresponde al 80% del volumen de filtrado obtenido.

○ SEPARACIÓN

Se separó la pectina precipitada utilizando un embudo y tela liencillo. Luego de la separación se obtuvo la pectina (húmeda) y una mezcla etanol-agua. El etanol obtenido luego de dicha separación se recuperó mediante destilación.

○ **PURIFICACIÓN**

Con el fin de eliminar impurezas y trazas de HCl que afecten la solubilidad y el aspecto de la pectina, se llevó a cabo un proceso de purificación. El proceso consta de los siguientes pasos:

Se disolvió nuevamente en un beaker con 300 mL de agua la pectina obtenida en la primera centrifugación.

Se filtró y recuperó el sobrenadante en el cual se encuentra disuelta la pectina.

Se precipitó la pectina disuelta utilizando etanol comercial al 96% y empleando la misma relación de volumen de la primera precipitación. Se filtró nuevamente la pectina purificada.

○ **SECADO**

La pectina se secó en una estufa a una temperatura de 40°C durante horas. Luego se esparció de manera uniforme sobre una caja Petri previamente pesada con el fin de determinar la cantidad de pectina obtenida mediante la diferencia entre el peso final e inicial.

○ **RENDIMIENTO**

Los rendimientos reportados se calcularon en base seca. Se realizó la deshidratación de la cáscara de la mazorca del cacao hasta obtener un peso constante, con el fin de determinar el peso seco en 200 g iniciales de material sólido.

DIAGRAMA DE FLUJO

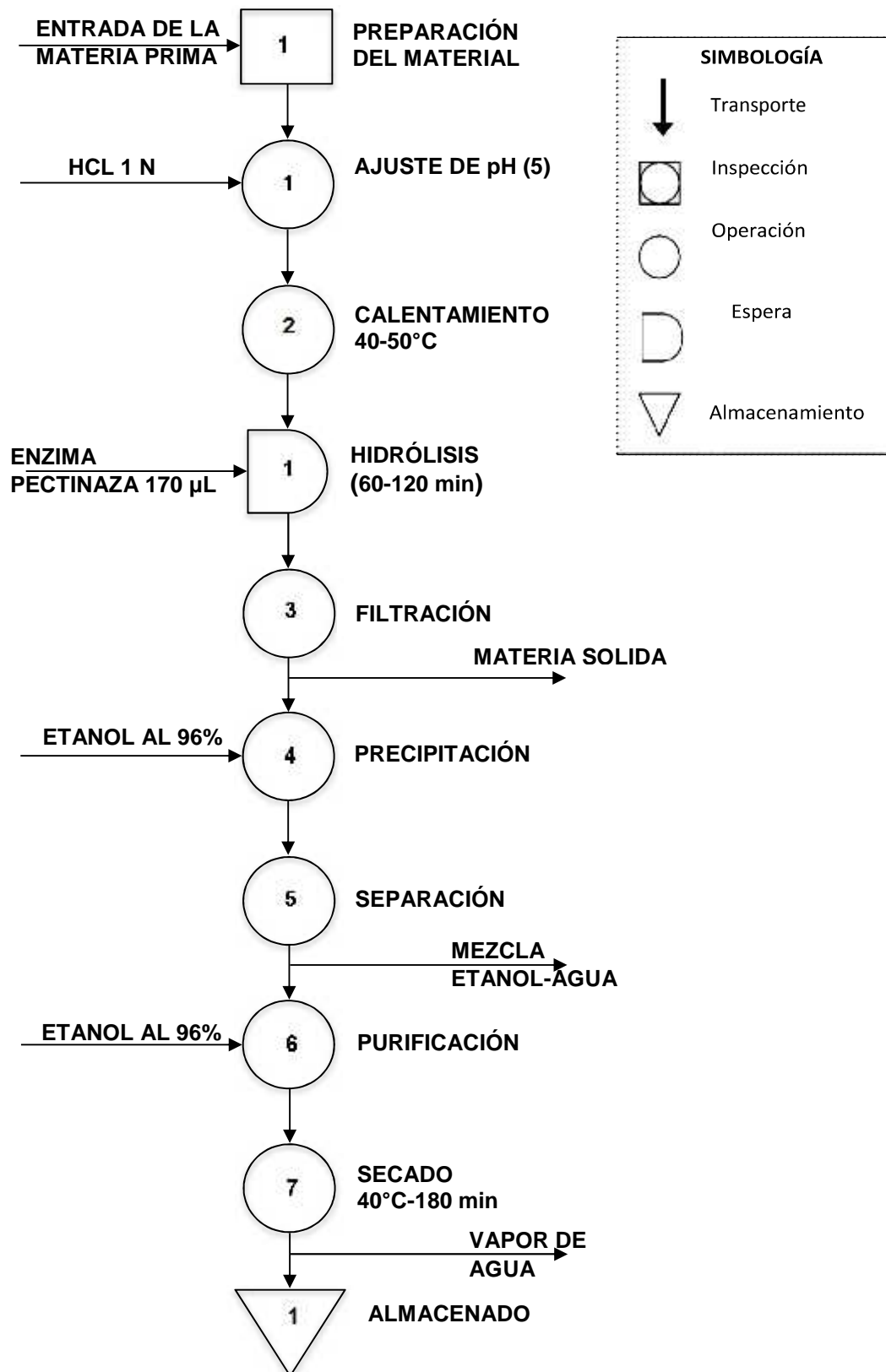


Figura 2: Diagrama de proceso de hidrólisis enzimática

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación de medias mediante t de Student realizados para comparar los rendimientos y solubilidad en los dos métodos de extracción de pectina mostrados en la tabla 4, se determina diferencia significativa ($p < 0,05$) entre ambos métodos.

El método ácido reportó un mayor porcentaje de rendimiento en relación al método enzimático. Mendoza *et al.* (2017), indican que a mayor concentración de enzimas el rendimiento de pectina es significativamente alto a los obtenidos con hidrólisis ácida. Esta diferencia se asocia a la posible insuficiencia en el tiempo de extracción. Sin embargo, la concentración de enzima se mantuvo constante durante esta, ya que el tiempo si fue adecuado, a pesar de que el rendimiento fue menor.

En cuanto a la solubilidad de la pectina se estableció diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) entre ambos métodos de extracción de pectina. El método de extracción enzimática reportó un mayor porcentaje de solubilidad que el método ácido (anexo 3). Según Zapata, Escobar, Cavalitto y Hours (2008), indican que el pH, la temperatura y la concentración de solución amortiguadora de pH ejercen un importante efecto sobre el proceso de solubilización de pectina, con un nivel óptimo de solubilización a pH 5 y 37°C, lo que asemeja las condiciones de la pectina extraída en el método enzimático.

Tabla 4: Promedio de pectina extraída de cáscara de cacao por métodos ácido y enzimático

Método de extracción	Pectina	
	Rendimiento (%)	Solubilidad (%)
Ácida	6,33 a	23,40 b
Enzimática	3,94 b	23,69 a
p	0,031	<0,0001

Promedios con letras distintas en columna difieren según la prueba de t Student al 0,05 de error.

Como se muestra en la tabla 5, el efecto del pH sobre el rendimiento en la obtención de la pectina es significativo ($p < 0,05$), sin embargo, el factor tiempo y la interacción con el pH no muestran significación.

A menor pH y mayor tiempo de hidrólisis se obtuvo mejor producción de pectina conforme a lo reportado por Maldonado, Salazar, Millones, Torres y Vásquez (2010), en su investigación donde el mayor rendimiento de pectina, se dio cuando emplearon el pH más bajo, coincidiendo con los resultados obtenidos y descritos en el presente trabajo.

Tabla 5: Efectos de los factores y la combinación de ambos en el rendimiento de la pectina en la extracción ácida

Tratamientos		Método Ácida Pectina (%)
Efecto de pH		
1,5		8,37±0,76 a
2,5		1,5±0,76 b
p		0,0089
Efecto de Tiempo (min)		
30		7,45±0,76
20		5,22±0,76
p		0,0815
Efecto de interacción pH x tiempo (min)		
1,5	30	10,21±1,07
1,5	20	6,53±1,07
2,5	30	4,69±1,07
2,5	20	3,91±1,07
p		0,2232

Letras distintas en columna difieren según separación de medias tukey al 0,05 de error.
Valores medios ±error estándar.

Lo expuesto en la tabla 6, muestra que los efectos del tiempo, la temperatura y la combinación de ambas, no reflejan diferencias significativas, sin embargo, el mayor tiempo de hidrólisis combinado con la mayor temperatura proporciona un rendimiento numéricamente representativo. Según Mendoza *et al.* (2017), en su trabajo realizado indican que utilizando la mayor concentración de complejo enzimático obtuvo el mejor rendimiento en sus tratamientos, en contraste con la interacción de tiempos y temperatura que no reflejaron diferencias significativas.

Tabla 6: Efectos de los factores y la combinación de ambos en el rendimiento de la pectina en la extracción enzimática

Tratamientos		Método Enzimática Pectina (%)
Efecto de Tiempo (min)		
120		4,57±0,97
60		3,29±0,97
p		0,3864
Efecto de Temperatura (°C)		
50		4,36±0,97
40		3,50±0,97
p		0,556
Efecto de interacción tiempo (min) x temperatura (°C)		
120	50	5,53±1,37
120	40	3,62±1,37
60	40	3,39±1,37
60	50	3,19±1,37
p		0,4724

Valores medios ±error estándar.

En la tabla 7, se muestra las diferencias numéricas de los picos característicos de la pectina obtenida en la investigación (anexo 4) y los de la pectina comercial RAPID SED evaluada por Betancourt y Llano (2009). En las figuras 3, 4 y 5 se observan las longitudes de onda de la pectina extraídas por el método ácido, el método enzimático y la realizada por el autor antes mencionado a la pectina comercial en el espectro infrarrojo.

Tabla 7: Cuadro comparativo de los picos de longitud de onda en el espectro infrarrojo de las pectinas extraídas y la pectina comercial (rapid sed)

Variantes	Grupos funcionales				
	C=O ÉSTER	C=O ÁCIDO	C-H	C-O	-OH
Pectina Ácida (cm ⁻¹)	1720,47	1632,10	2919,64	1013,40	3311,40
Pectina Enzimática (cm ⁻¹)	1727,98	1600,99	2927,03	1242,60	3262,40
Pectina comercial (cm ⁻¹)	1741,07	1637,95	2932,33	1070,00	3390,20

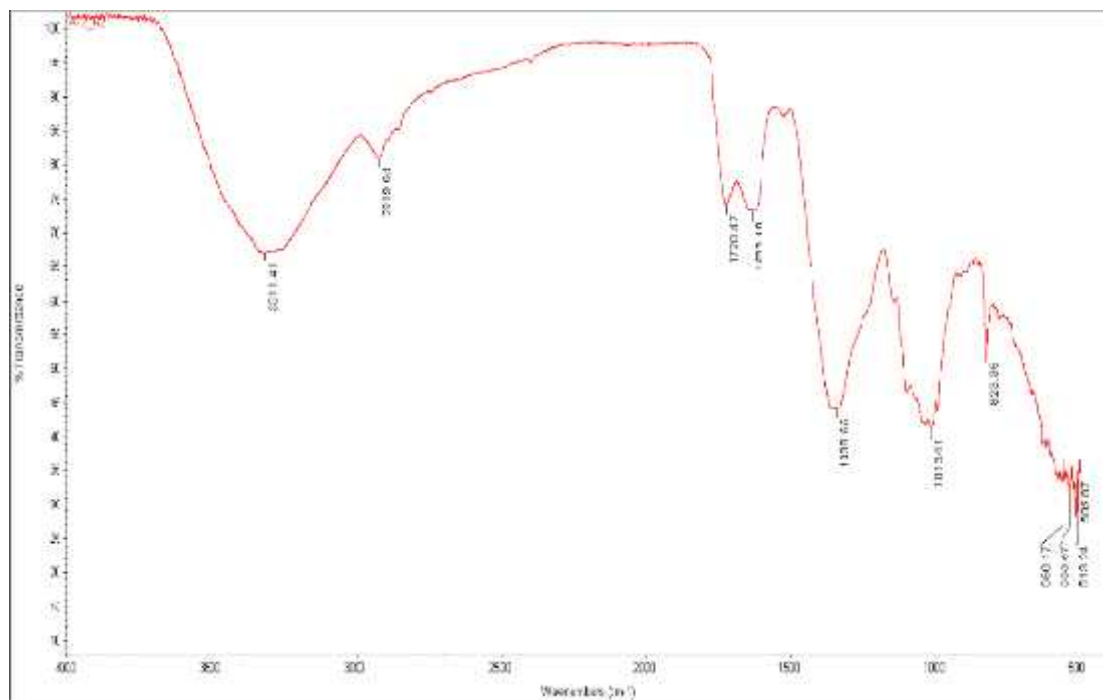


Figura 3: Longitud de onda del espectro IR en la pectina del método ácido

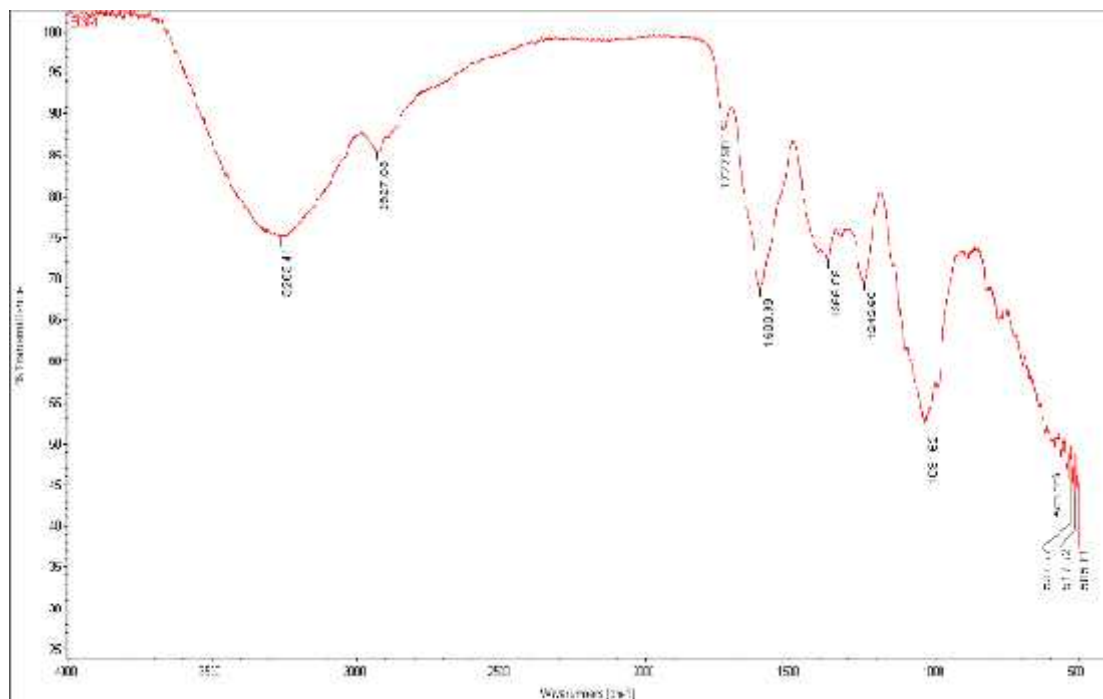


Figura 4: Longitud de onda del espectro IR en la pectina del método enzimático

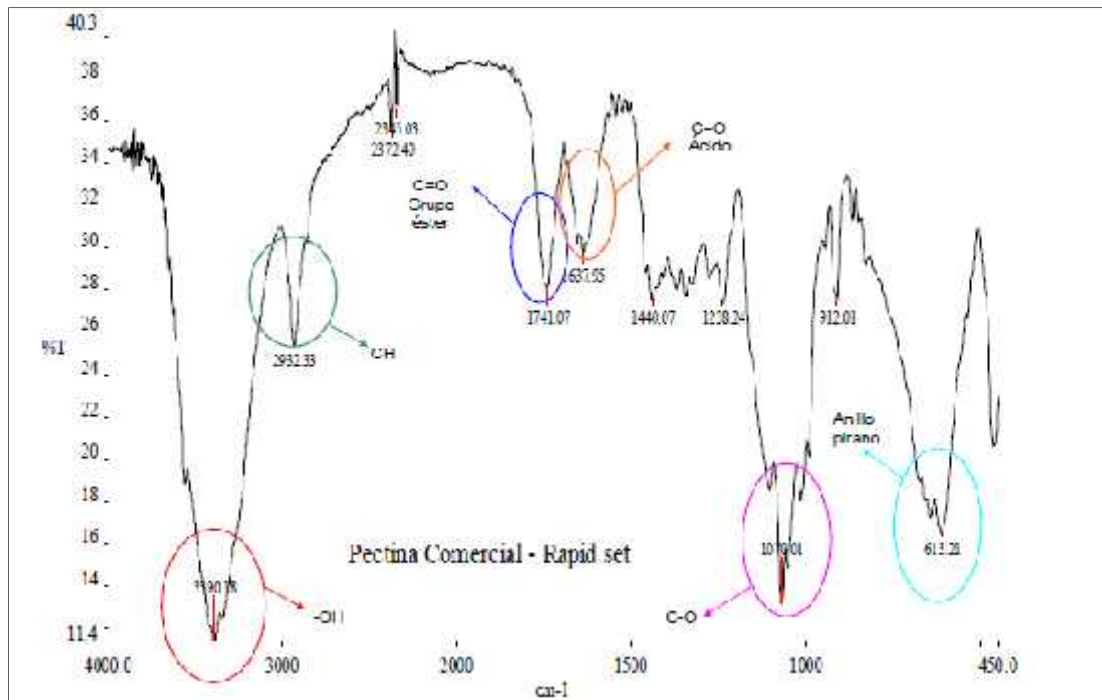


Figura 5: Longitud de onda del espectro IR en la pectina comercial Rapid set

El grado de esterificación de la pectina extraída, por los métodos de hidrólisis ácida y enzimática fueron de 51,31 y 51,90% respectivamente, lo cual nos indica que la pectina que se obtiene de la cáscara de cacao es de alto grado metoxilo, tal como expresa Rascón *et al.* (2016) en el trabajo realizado, el grado de esterificación de las pectinas extraídas en dos variedades de manzanas fue de 57 y 63% categorizándolas con pectinas de alto grado metoxilos e indicando que valores de esterificación por encima de 50% se consideran de alto grado.

La capacidad de gelificación de la pectina extraída en ambos métodos fue de 2,28 y 1,35 g_{H2O}/g_{pectina} para el método enzimático y ácido respectivamente (anexo 5), lo que nos indica que la pectina extraída tiene gran capacidad de gelificación tal como indica Cabarcas, Guerra y Henao (2012), las pectinas con alto metoxilo, se considera que a un pH de 3,4 por lo menos un 40% de los ésteres metílicos están desesterificados y por lo tanto será difícil lograr la formación de un gel estable.

Como se muestra en la tabla 8, los datos obtenidos en los análisis de CRA, CAA y CH realizados a la pectina de cáscara de cacao de ambos métodos (anexo 6), coinciden en valores con las propiedades funcionales de una fibra dietaria soluble (pectina), tal como indica Arroyo *et al.* (2008), que la pectina

tiene gran capacidad de retener agua, aceite e hincharse, comparadas con fibras de otro tipo (celulosas y hemicelulosas). Notándose que en la pectina de la extracción enzimática son mayores dichas propiedades, tal como expresa Valencia y Román (2006), que la diferencia en los valores de las propiedades puede tener explicación en los tratamientos realizados en cada extracción.

Tabla 8: Propiedades funcionales de la pectina de la cáscara de cacao

MÉTODO DE EXTRACCIÓN	PROPIEDADES FUNCIONALES		
	CRA (gH ₂ O/gpectina)	CAA (gH ₂ O/gpectina)	CH (mLH ₂ O/gpectina)
ÁCIDO	4,54	0,31	0
ENZIMÁTICO	9,96	0,43	0

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

-) El método de extracción ácida obtuvo un mayor rendimiento de pectina en relación con la enzimática.
-) La pectina extraída por el método enzimático obtuvo mejores características de solubilidad en relación a la extracción ácida, a pesar de que esta última obtuvo mejor rendimiento.
-) El área que ocupan los picos de los grupos carboxílicos esterificados y no esterificados de la longitud de onda de las pectinas extraídas por ambos métodos comparten similitudes con los picos de la pectina comercial.
-) La pectina extraída por el método enzimático obtuvo mayores propiedades funcionales en comparación a la pectina de la extracción ácida.

5.2. RECOMENDACIONES

-) Evaluar el comportamiento del complejo enzimático a diferentes concentraciones y sus efectos en el rendimiento del hidrolizado en la obtención de la pectina.
-) Determinar nuevos niveles en la variable tiempos de hidrolizados, para el mejoramiento de las propiedades funcionales de la pectina obtenida en el método ácido.
-) Determinar el porcentaje de gelificación de las pectinas extraídas en cada método.

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, D., Martínez, R., Muñoz, J., Torres, M. y Vargas, G. (2010). Residuos de Café, Cacao y Cladodio de Tuna: Fuentes Promisorias de Fibra Dietaria. *Revista Tecnológica ESPOL*. 23(2). 63-69. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Ruth_Martinez_Espinosa/publication/279425219_Residuos_de_Cafe_Cacao_y_Cladodio_de_Tuna_Fuentes_Promisorias_de_Fibra_Dietaria/links/564e043708aefe619b0f73b1/Residuos-de-Cafe-Cacao-y-Cladodio-de-Tuna-Fuentes-Promisorias-de-Fibra-Dietaria.pdf.
- Ardila, C. & Carreño, S. (2011). Aprovechamiento de la cáscara de la mazorca de cacao como adsorbente (tesis pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Recuperado de <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2011/137849.pdf>.
- Arroyo, Y., Carrasco, M., Bueno, A., Cardeña, R. & Luízar, C. (2008). Obtención y caracterización fisicoquímica y funcional de las fibras dietéticas del níspero común (*Mespilus germanica*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(4), 269-281. Recuperado en 27 de octubre de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2008000400007&lng=es&tlng=es.
- Aza, E. & Méndez, A. (2011). Extracción de pectina de Nopal (*Opuntia Ficus indica*) por medio ácido aplicando dos niveles de temperatura, tiempos y estados de madurez. (Tesis pregrado). Universidad Técnica del Norte. Tulcán, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/743/2/03%20AGI%2093%20ART%20C3%8DCULO%20CIENT%20C3%8DFICO.pdf>.
- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E. & Sikor, M. (2012). Cocoa agronomy, quality, nutritional and health aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55(5), 620-659. doi:10.1080/10408398.2012.669428
- Baena, L. & García, N. (2012). Obtención y caracterización de fibra dietaría a partir de cascarilla de la semilla tostada de *Theobroma cacao* de una industria chocolatera (Tesis pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia. Recuperado de http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3036/66392_B139.pdf.
- Barazarte, H., Sangronis, E. & Unai, E. (2008). Cocoa (*Theobroma cacao*) hulls: a posible commercial source of pectins. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(1), 64-70. Recuperado de

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222008000100009.

- Betancourt, L. & Llano, J. (2009). *Extracción de pectina a partir de los subproductos del beneficio del cacao.*, Universidad de EAFIT. Medellín Colombia. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/47237189.pdf>.
- Bravo, A. & Condo, E. (2015). Comparación de la pectina obtenida a partir del aprovechamiento de las cáscaras de banano y cacao por el método de hidrólisis ácida (tesis pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8938>.
- Cabarcas, E., Guerra, A. & Henao, C. (2012). Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscara de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción (tesis de pregrado). Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia. Recuperado de: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado.Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platanos%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20general~1.pdf>.
- Cárdenas, W., Vélez, R., Siller, J., Osuna, T., Muy, M., & Sañudo, J. (2012). Changes in the composition of starch, pectins and hemicelluloses during the ripening stage of mango (*Mangifera indica* cv. kent). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 18(1), 05-19. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027152X2012000100001&lng=es&tlng=en.
- Chasquibol, N., Arroyo, E. & Morales, J. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, (26), 175-199. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337428492010>.
- Chávez, J. (2018). Extracción de pectina a partir de cáscara de "naranja criolla" (*Citrus aurantium*) proveniente de la Provincia de Rodríguez de Mendoza. *Investigaciones Amazonenses*. 3(1). 24-26. Recuperado de <http://repebis.upch.edu.pe/articulos/invest.amazon/v3n1/a5.pdf>.
- Chirinos, R., Mendoza, R., Aguilar-Gálvez, A., & Campos, D. (2017). Hidrólisis química y enzimática de extracto de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para la producción de fructosa. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(2), 200-212. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2017000200006.

- Correa, C., Garza, Y., Rodríguez, J., Aguilar, C. & Contreras, J. (1999). Geles de pectina de bajo metoxilo modificadas enzimáticamente. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 43(1). 15-17. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47543203>.
- Crescente, O., Acosta, M., Guevara, M. & Estaba, A. (1999). Aprovechamiento de los desechos del cacao (*Theobroma cacao*). *Saber*, 11(2), 28-30. Recuperado de <http://www.ojs.udo.edu.ve/index.php/saber/article/view/794>.
- Guanga, S. (2018). Estudio y aprovechamiento de los residuos del cacao de la compañía Nestlé como estrategia comercial (tesis pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/29775>.
- Guerrero, G., Suárez, D. & Orozco, D. (2017). Implementación de un método de extracción de pectina obtenida del subproducto agroindustrial cascarilla de cacao. *Revistas unicordoba*. 22(1). 85-90. Recuperado de <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/viewFile/919/1167>.
- Hincapié, G., Vásquez, D., Galicia, V., & Hincapié, C. (2014). Propiedades técnico-funcionales de la fibra dietaria de cáscaras de mango variedad hilacha (*Mangifera indica*) efecto del secado por convección. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 12(1), 153-160. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n1/v12n1a18.pdf>.
- Lecumberri, E., Mateos, R., Ramos, S., Alía, M., Rúperez, P., Goya, L., Izquierdo-Pulido, M., & Bravo, L. (2006). Caracterización de la fibra de cacao y su efecto sobre la capacidad antioxidante en suero de animales de experimentación. *Nutrición Hospitalaria*, 21(5), 622-628. Recuperado de <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=309226704010>.
- Maldonado, Y., Salazar, S., Millones, C., Torres, E. & Vásquez. (2010). Extracción de pectina mediante el método de hidrólisis ácida en fruto de maushan (*Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V.M. Badillo) proveniente del distrito de San Miguel de Soloco, región Amazonas. *Revista Aporte Santiaguino*; 3(2): 177-184. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/as/v3n2/a05v3n2>.
- Mendoza, L., Jiménez, J. & Ramírez, M. (2017). Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao*). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1), 131-138. Recuperado de

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012342262017000100015&lng=en&tlng=es.es/2017/2/art-10/.

- Morales, C., Nieto, A., Quiroga, L., & Quicazan, M. (2012). Validación del método y determinación de fibra dietética soluble e insoluble en harina de trigo y pan. *Vitae*, 19(1), s340-s342. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914106.pdf>.
- Muñoz, F. (2011). Extracción y caracterización de la pectina obtenida a partir del fruto de dos eco tipos de cocona (*Solanum sessiliflorum*), en diferentes grados de madurez; a nivel de planta piloto (Tesis de Pre grado). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/4006/1/822093.2011.pdf>.
- Nevárez, G., Flor, F., Solórzano, V., & Molina, J. (2017). Influencia del estado de coloración y del agente de extracción sobre la obtención de pectina a partir de dos variedades de maracuyá (*Passiflora edulis*). *La Técnica*, (18), 36-42. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6087655>.
- Nizama, K. (2015). Obtención y caracterización de pectina a partir de cáscara de cacao (*Theobroma cacao*). (Tesis pregrado). Universidad Nacional de Piura. Perú. Recuperado de <http://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/382/AGRNIZYAM15.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Ortiz, B. & Anzola, C. (2018). Estudio del efecto fisiológico del consumo de arepas enriquecidas con pectina extraída de la cáscara de curuba (*Passiflora tripartita var. mollissima*). *Revista colombiana de química*, 47(2). Doi: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v47n2.65812>.
- Pagan, J. (1999). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón (tesis doctoral). Universidad de Lleida, España. Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes. Recuperado de <http://www.cervantesvirtual.com/nd/ark:/59851/bmcz8965>.
- Paredes, J., Hernández, R., & Cañizares, A. (2015). Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cascotes de guayaba (*Psidium guajava*). *Idesia (Arica)*, 33(3), 35-41. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292015000300006>.
- Rascón, A., Martínez, A., Carvajal, E., Martínez, K. & Campa, A. (2016). Gelificación iónica de pectina de bajo grado de esterificación extraída de manzanas inmaduras de raleo. *Rev. Fitotec. Mex.*, 39(1), 17-24. Recuperado de: www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v39n1/v39n1a5.pdf.

- Rodríguez, K. & Román, A. (2004). Extracción y evaluación de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades (*citrus sinensis*) y (*citrus paradisi*) y propuesta de diseño de planta piloto para su producción. (Tesis pregrado). Universidad de El Salvador. El Salvador. Recuperado de <http://ri.ues.edu.sv/5623/1/10127872.pdf>.
- Romero, H., Tinoco, O., & Dávila, K. (2015). Hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales del banano para la obtención de jarabe glucosado aplicando tres pretratamientos. *Industrial Data*, 18(1), 101-107. Recuperado de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/idata/article/view/12072>.
- Sánchez, J. (2013). Evaluación energética de la cáscara de cacao nacional y CCN-51 (tesis maestría). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4508/1/tesis.pdf>.
- Solari, A., Córdova, J., Pilco, S., Cerrón, L., Albrecht, M., & Sánchez, J. (2017). Composición proximal y propiedades funcionales del surimi liofilizado de *Dosidicus gigas* "calamar gigante". *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 57-62. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357650378005>.
- Suárez, D. & Orozco, D. (2014). *Obtención y caracterización de pectina a partir de la cascarilla de cacao del Theobroma cacao, subproducto de una industria chocolatera nacional.*, Universidad Tecnológica De Pereira. Colombia. Recuperado de http://www.academia.edu/28418197/OBTENCI%C3%93n_y_caracterizaci%C3%93n_de_pectina_a_partir_de_la_cascarilla_de_cacao_del_theobroma_cacao_l_subproducto_de_una_industria_chocolatera_nacional.
- Thakur, B., Singh, R., Handa, A. & Rao, M. (1997). Chemistry and uses of pectin — A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1). 47-73. doi:10.1080/10408399709527767.
- Valencia, F. & Román, M. (2006). Caracterización físicoquímica y funcional de tres concentrados de fibra dietaria. *Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica*. 13(2). 54-60. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v13n2/v13n2a07.pdf>.
- Valenzuela, L., & Ortiz, B., & Pérez, C. (2014). Estudio comparativo del efecto metabólico de arepas enriquecidas con pectina extraída de guayaba (*Psidium guajava*) o pectina cítrica comercial. *Revista Colombiana de Química*, 43(3). 5-10. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/3090/309042140001.pdf>.

- Vargas, Y., & Pérez, L. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de ciencias Básica*. 1(1). 1-14. Doi: <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>.
- Vilcanqui, F., & Vílchez, C. (2018). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. *Revisión. Alanrevista.org*. 67(2). Recuperado de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2017/2/art-10/>.
- Zapata, A., Escobar, C., Cavalitto, S. & Hours, R. (2008). Evaluación de la capacidad de solubilización de pectina de cáscara de limón usando protopectinasa-se. *Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica*. 16(1). 67-74. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a08.pdf>.

ANEXOS

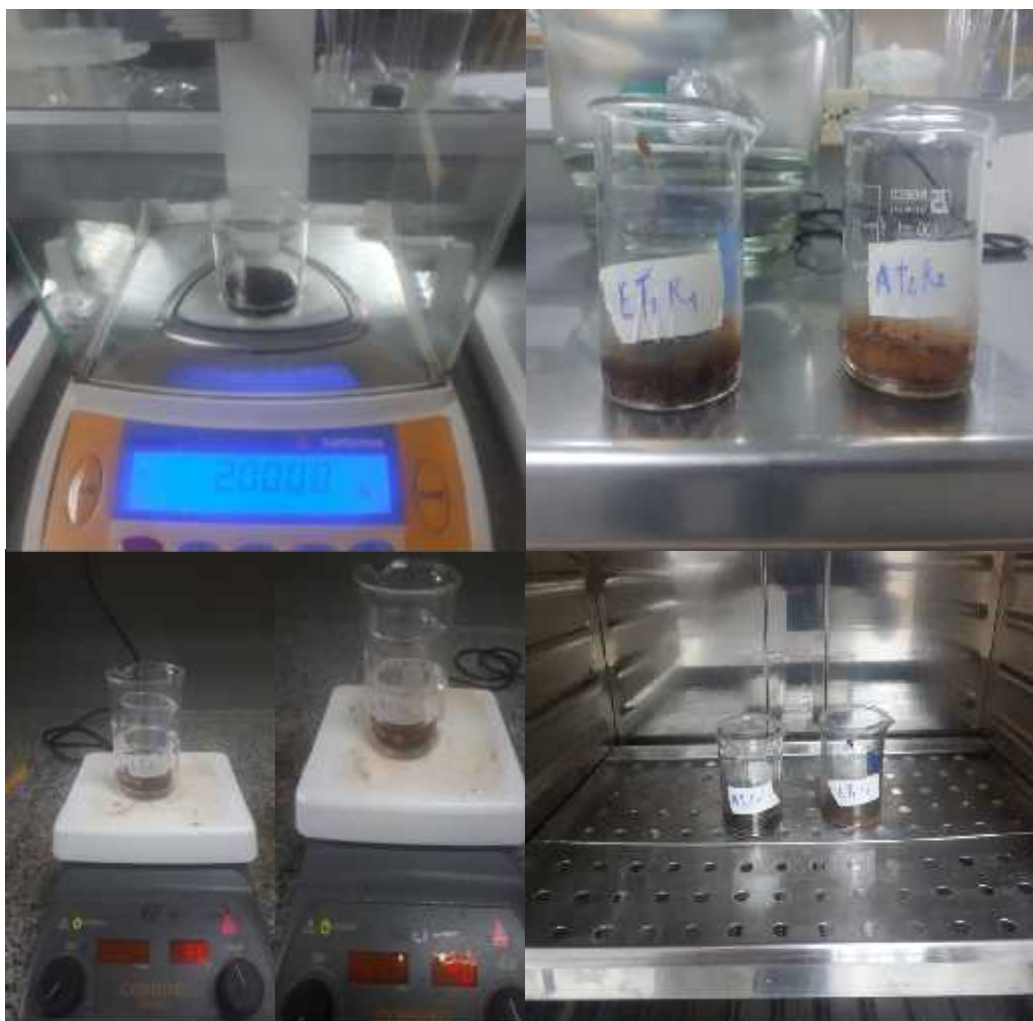
ANEXO 1: Método de extracción de hidrólisis ácida



ANEXO 2: Método de extracción de hidrólisis enzimática



ANEXO 3: Análisis para solubilidad de la pectina



ANEXO 4: Análisis de espectrofotometría infrarroja



ANEXO 5: Análisis de capacidad de gelificación

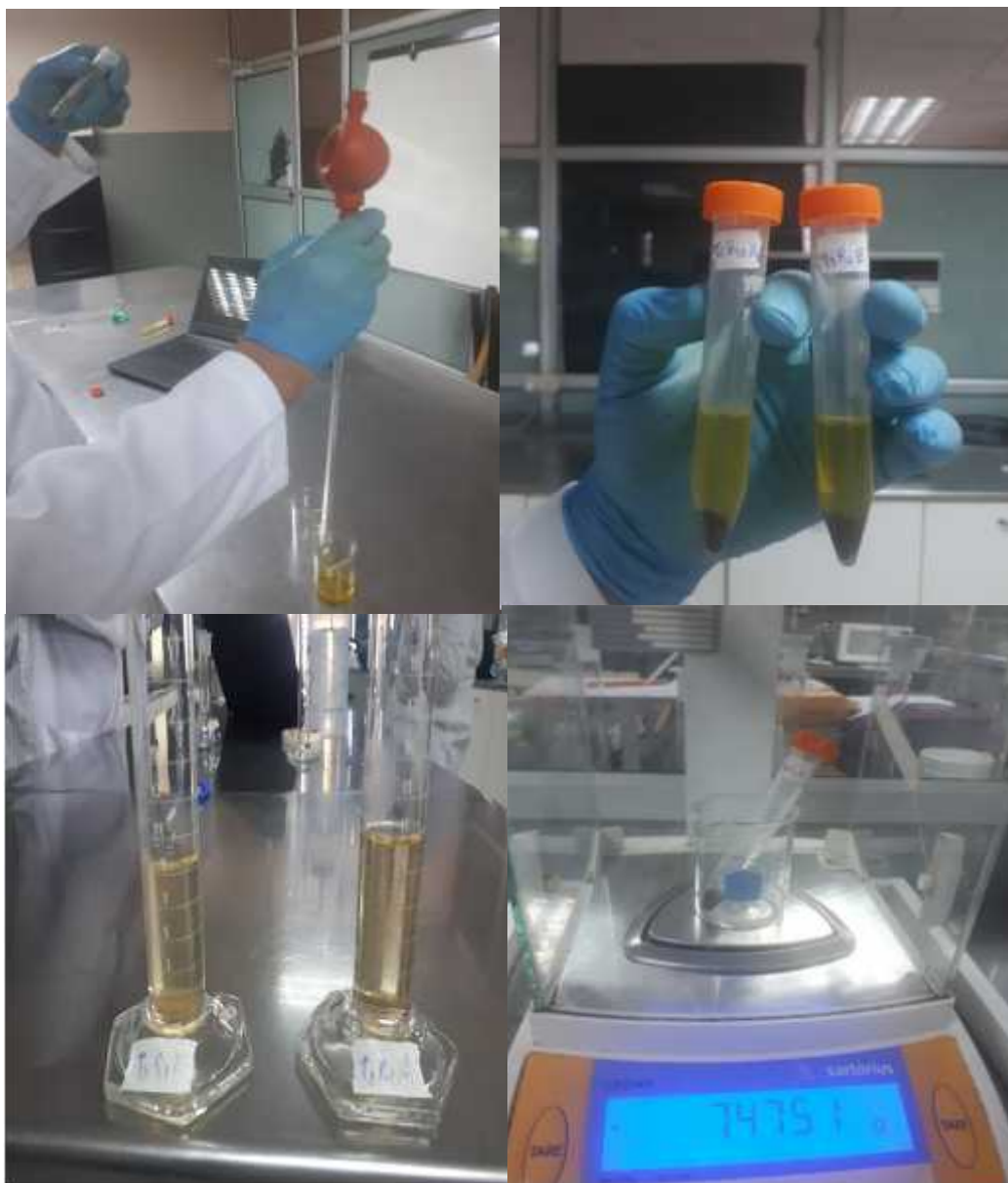


ANEXO 6: Análisis de propiedades funcionales de la pectina

ANEXO 6-A: Capacidad de retención de agua



ANEXO 6-B: Capacidad de adsorción de aceite



ANEXO 6-C: Capacidad de hinchamiento

