

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS



TRABAJO PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**OBTENCIÓN DE PECTINA A PARTIR
DEL MESOCARPIO DE LA GRANADILLA
(*Passiflora ligularis J.*) MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA**

POR: RUBÉN MARCELO VILLALOBOS TORREZ

TUTOR: Phd. RIGOBERTO CHOQUE ASPIAZU

COTUTOR: M. Sc. SILVIA RAMOS PAREDES

LA PAZ – BOLIVIA

Junio, 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Dios, nuestro Padre celestial, por darme la vida, salud, fortaleza para seguir adelante y por todas sus bendiciones que nos regala día a día.

A mi familia por todo el apoyo incondicional.

Mi más sincero agradecimiento a mis tutores: Dr. Rigoberto Choque Aspiazu y la Lic. Silvia Ramos Paredes por todo su apoyo, paciencia y colaboración, durante el desarrollo y culminación de este trabajo.

Agradezco a mi tribunal revisor M.Sc. Luis V. Morales por sus observaciones y sugerencias para la elaboración final de este trabajo de investigación.

Agradecer al Lic. Christian Romero y la Empresa Noster Tec. SRL por permitirme realizar las lecturas de Espectroscopía Infrarrojo en sus instalaciones.

A los docentes de la carrera de Ciencias Químicas por compartir todos sus conocimientos académicos y contribuir en mi formación profesional.

A mis amigos del área de Fisicoquímica y Biorgánica por todo su apoyo y sabios consejos durante el desarrollo del presente trabajo: Lizeth, Fabio, Yaquelin, Sergio, Santos y Efraín, gracias por todo y que Dios les bendiga y guíe en su camino.

CONTENIDO

1	Introducción.....	1
1.1	Antecedentes	2
1.2	Problemática.....	4
2	Objetivos	5
2.1	Objetivo general	5
2.2	Objetivos específicos.....	5
2.3	Justificación.....	6
3	MARCO TEÓRICO	7
3.1	Granadilla	7
3.1.1	Descripción botánica de la planta.....	8
3.1.2	Clasificación taxonómica de la granadilla	9
3.1.3	Composición nutricional de la granadilla.....	9
3.1.4	Madurez fisiológica del fruto de granadilla	10
3.2	Generalidades de la pectina.....	11
3.2.1	Definición de pectina	12
3.2.2	Pared celular vegetal y la pectina.....	12
3.2.3	Estructura de la pectina	13
3.2.4	Clasificación de las sustancias pécticas	14
3.2.4.1	Protopectinas.....	14
3.2.4.2	Ácidos Pectínicos.....	15
3.2.4.3	Pectinas	15
3.2.4.4	Ácidos Pécticos.....	15
3.2.5	Tipos de pectina	15
3.2.5.1	Pectina de alto metoxilo.....	15

3.2.5.2	Pectina de bajo metoxilo.....	16
3.2.6	Aplicaciones de la pectina.....	16
3.3	Espectroscopia Infrarrojo	16
3.3.1	Aplicación de la espectroscopia Infrarrojo.....	17
3.4	Diseños experimentales.....	18
3.4.1	Experimentos factoriales	18
3.4.2	Prueba de hipótesis.....	19
4	PARTE EXPERIMENTAL.....	20
4.1	Ubicación del trabajo de investigación	20
4.2	Equipos Materiales y Reactivos	20
4.2.1	Equipos y materiales	20
4.2.2	Reactivos	21
4.3	Procedimiento Experimental.....	21
4.3.1	Materia prima para extracción de pectina	21
4.3.2	Separación del mesocarpio.....	23
4.3.3	Lavado.....	23
4.3.4	Inactivación enzimática.....	24
4.3.5	Secado	24
4.3.6	Triturado.....	25
4.3.7	Hidrólisis	25
4.3.8	Filtración	26
4.3.9	Precipitación y separación.....	26
4.3.10	Secado de la pectina	27
4.3.11	Molienda.....	27
4.3.12	Pesaje.....	27

4.3.13 Envasado	28
4.4 Determinaciones Analíticas.....	28
4.4.1 Peso equivalente (PE).....	28
4.4.2 Acidez libre (AL)	29
4.4.3 Porcentaje de metoxilo (ME)	29
4.4.4 Grado de esterificación (GE).....	30
4.5 Análisis por Espectroscopía Infrarrojo (FT-IR)	30
4.6 Diseño experimental.....	31
4.6.1 Tratamientos.....	33
5 RESULTADOS Y DISCUSIONES	34
5.1 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico variando pH y temperatura	34
5.1.1 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico a tres niveles de pH y 60 °C	34
5.1.2 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico a tres niveles de pH y 77 °C	34
5.2 Extracción de pectina con EDTA variando Concentración y temperatura	36
5.2.1 Extracción de pectina a 0,5; 0,75 y 1,0% de EDTA y 60 °C.	36
5.2.2 Extracción de la pectina a 0,5; 0,75 y 1,0 % de EDTA a 77 °C.....	36
5.3 Evaluación del efecto de los distintos tipos de ácido, pH y temperatura en la extracción de pectina a través de un Análisis estadístico.....	38
5.3.1 Análisis de varianza de Rendimiento de pectina con HCl y ácido cítrico	38
5.3.1.1 Prueba de medias Tukey para el tipo de ácido.....	39
5.3.1.2 Prueba de medias Tukey para el pH	40
5.3.1.3 Prueba de medias Tukey para la temperatura	40
5.3.2 Análisis de varianza del rendimiento de pectina con EDTA	40
5.3.2.1 Prueba de medias Tukey para las concentraciones de EDTA	41
5.3.2.2 Prueba de medias Tukey para la temperatura en EDTA.....	42

5.4	Determinación del peso equivalente (PE), acidez libre (AL), porcentaje de metoxilo y grado de esterificación (GE) de la pectina por valoración ácido-base.....	42
5.4.1	Peso equivalente (PE) con HCl y Á. Cítrico	42
5.4.2	Peso equivalente (PE) con EDTA	44
5.4.3	Acidez libre (AL) con HCl y Ácido Cítrico.....	45
5.4.4	Acidez libre (AL) con EDTA.....	47
5.4.5	Porcentaje de metoxilo (%ME) con HCl y Á. Cítrico.....	48
5.4.6	Porcentaje de metoxilo (%ME) con EDTA.....	50
5.4.7	Grado de esterificación (GE) con HCl y Á. Cítrico	51
5.4.8	Grado de esterificación (%GE) con EDTA.....	53
5.5	Comparación de parámetros de la pectina.....	54
5.6	Caracterización de la pectina por Espectroscopia Infrarrojo FT.....	55
5.6.1	Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido clorhídrico.....	56
5.6.2	Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido cítrico.....	56
5.6.3	Espectro FT-IR de pectina extraída con EDTA	57
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	59
6.1	Conclusiones	59
6.2	Recomendaciones.....	61
7	BIBLIOGRAFIA.....	62
8	ANEXOS.....	68

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cultivo de la granadilla.....	7
Figura 2. Planta de la granadilla.....	8
Figura 3. Fruto de la granadilla.....	9
Figura 4. Estados de madurez de la granadilla.....	11
Figura 5. Estructura básica de la pectina.....	12
Figura 6. Estructura de la pared celular vegetal y sus componentes.....	13
Figura 7. Estructura convencional de la pectina	14
Figura 8. Estructura de pectina de alto metoxilo.....	16
Figura 9. Estructura de pectina de bajo metoxilo.....	16
Figura 10. Espectro electromagnético y sus regiones	17
Figura 11. Grupos funcionales y sus regiones en el Infrarrojo	18
Figura 12. Provincia Inquisivi, La Paz.....	22
Figura 13. Fruta de granadilla de la localidad de Charapaxi.....	22
Figura 14. Granadilla partida a la mitad (izq). Mesocarpio separado (der).	23
Figura 15. Lavado del mesocarpio de la granadilla	23
Figura 16. Inactivación enzimática del mesocarpio	24
Figura 17. Mesocarpio de la granadilla en la estufa (izq). Mesocarpio secado (der).	24
Figura 18. Mesocarpio de la granadilla en licuadora (izq). Mesocarpio triturado (der). .	25
Figura 19. Hidrólisis en la plancha de calentamiento	25
Figura 20. Filtrado del mesocarpio	26
Figura 21. Precipitado con etanol (izq). Separación de la pectina precipitada (der)	26
Figura 22. Pectina en caja Petri (izq). Pectinas secando en la estufa (der).	27
Figura 23. Pectina seca en caja petri (izq). Molienda de la pectina en mortero (der).	27
Figura 24. Pesada de la Pectina seca (izq). Pectina seca y molida (der).	28

Figura 25. Envasado de las pectinas por tratamientos	28
Figura 26. Espectroscopio FTIR de la Empresa Noster Tec SRL.....	31
Figura 27. Rendimiento de pectina empleando HCl y ácido cítrico a 60°C	34
Figura 28. Rendimiento de pectina empleando HCl y ácido cítrico a 77°C	35
Figura 29. Rendimiento de pectina empleando EDTA a 60°C	36
Figura 30. Rendimiento de pectina empleando EDTA a 77°C	37
Figura 31. Peso equivalente con HCl a diferentes niveles de pH.	43
Figura 32. Peso equivalente con ácido cítrico a diferentes pH	44
Figura 33. Peso equivalente a diferentes concentraciones de EDTA.....	45
Figura 34. Acidez libre de pectina extraída con HCl a diferentes pH.....	46
Figura 35. Acidez libre con ácido cítrico a diferentes pH y 77°C.....	47
Figura 36. Acidez libre a diferentes concentraciones de EDTA y 77 °C	48
Figura 37. Porcentaje de metoxilo con HCl a diferentes pH y 77°C.....	49
Figura 38. Porcentaje de metoxilo con Ácido Cítrico a diferentes pH y 77 °C	50
Figura 39. Porcentaje de metoxilo con EDTA a 77 °C	51
Figura 40. Grado de esterificación con HCl a diferentes pH y 77°C	52
Figura 41. Grado de esterificación con Ácido Cítrico a diferentes pH y 77 °C	53
Figura 42. Grado de esterificación con EDTA a 77 °C	54
Figura 43. Espectro FT-IR de la pectina estándar de limón.....	55
Figura 44. Espectro FT-IR de la pectina extraída con HCl a pH 2, 1	56
Figura 45. Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido cítrico a pH 2,9.....	57
Figura 46. Espectro FT-IR de pectina extraída con EDTA al 0,5%	57

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del fruto de la granadilla.....	10
Tabla 2. Análisis proximal del mesocarpio de la granadilla	10
Tabla 3. Equipos y materiales empleados en Laboratorio	20
Tabla 4. Reactivos empleados en Laboratorio y su aplicación	21
Tabla 5. Factores en la experimentación con ácido clorhídrico y ácido cítrico	31
Tabla 6. Factores aplicados en la experimentación con EDTA	32
Tabla 7. Tratamientos para la 1ra parte de la experimentación (HCl y ác. cítrico)	33
Tabla 8. Tratamientos para la 2da parte de la experimentación (EDTA)	33
Tabla 9. Anova de rendimiento para tipos de ácido, pH y temperatura.....	39
Tabla 10. Prueba de medias Tukey para el Factor Tipo de Ácido	39
Tabla 11. Prueba de medias Tukey para el Factor pH	40
Tabla 12. Prueba de medias Tukey para el Factor Temperatura.....	40
Tabla 13. Anova del rendimiento para la pectina extraída con EDTA y 77 °C	41
Tabla 14. Prueba de Tukey para el factor concentración de EDTA.....	41
Tabla 15. Prueba de Tukey para el factor temperatura con EDTA	42
Tabla 16. Peso equivalente de pectina extraída con HCl a diferentes niveles de pH	42
Tabla 17. Peso equivalente de pectina extraída con Ácido cítrico a distintos pH	43
Tabla 18. Peso equivalente de pectina extraída con EDTA	44
Tabla 19. Acidez Libre de pectina extraída con HCl a diferentes pH.....	45
Tabla 20. Acidez Libre de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH	46
Tabla 21. Acidez libre de pectina extraída con EDTA	47
Tabla 22. Metoxilo de pectina extraída con HCl a diferentes pH.....	48
Tabla 23. Metoxilo de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH.....	49
Tabla 24. Metoxilo de pectina extraída con EDTA a 77°C.....	50
Tabla 25. Grado de esterificación de pectina extraída con HCl a diferentes pH	51
Tabla 26. Grado de esterificación de pectina extraída con ácido cítrico a diferentes pH	52
Tabla 27. Grado de esterificación de pectina extraída con EDTA a 0,5; 0,75 y 1,0% ...	53
Tabla 28. Comparación de parámetros de calidad de la pectina	55
Tabla 29. Asignaciones obtenidas de bandas de espectros FT-IR de pectinas	58

RESUMEN

El presente trabajo de investigación es una contribución al estudio de la extracción de pectina a partir de residuos orgánicos (cáscaras), como el mesocarpio de la granadilla (*Passiflora ligularis J.*) por hidrólisis ácida. La materia prima empleada proviene de la Localidad de Charapaxi de la Provincia Inquisivi del departamento de La Paz. El estudio se desarrolló en el laboratorio de Fisicoquímica de la Carrera de Ciencias Químicas de la Universidad Mayor de San Andrés.

Para la extracción de pectina se emplearon tres tipos de ácidos, en la primera experimentación se utilizó ácido clorhídrico y ácido cítrico, variando el pH a: 2,1; 2,5 y 2,9, y temperaturas de 60 y 77 °C; obteniendo un mayor rendimiento de 34,0 % empleando ácido cítrico a pH 2,1 y temperatura de hidrólisis de 77 °C. Para la segunda experimentación se empleó EDTA, a concentraciones: 0,5; 0,75 y 1,0 %, y temperaturas de hidrólisis de 60 y 77 °C, obteniendo un mayor rendimiento 40,6 %, utilizando EDTA a concentración de 0,75% y temperatura de hidrólisis de 77°C.

Se determinó el porcentaje de metoxilo y grado de esterificación por valoración ácido-base. Los resultados obtenidos, muestran que las pectinas obtenidas con ácido clorhídrico son de alto metoxilo, además tienen alto grado de esterificación que varía entre 83,24 - 88,82 %; asimismo aquellas que fueron obtenidas con ácido cítrico el grado de esterificación varía entre 26,82 - 73,17 %. Las pectinas obtenidas con EDTA son de bajo metoxilo (4,38 – 6,09 %), con Grados de Esterificación entre 52,02 y 69,85 %, donde la pectina obtenida con EDTA de 0,5 % a 77 °C, dio un 69,85 %, mostrando un alto grado de esterificación.

Finalmente se realizó la caracterización por Espectrofotometría Infrarrojo, se comparó con un espectro de pectina estándar comercial; donde se confirma la presencia de los grupos funcionales característicos de una pectina, presentando las mismas bandas de absorción.

Palabras clave: Granadilla, mesocarpio, Hidrólisis ácida, pectinas, Grado de metoxilo, grado de esterificación, espectro infrarrojo.

CAPITULO 1

1 INTRODUCCIÓN

La granadilla (*Passiflora ligularis J.*) es una planta perenne, que tiene unos zarcillos trepadores, con un crecimiento rápido; tiene un tallo semileñoso en la parte del cuello y herbáceo en la parte superior. Sus raíces son superficiales, con hojas de forma acorazonada y flores de color violeta (Cerdas y Castro, 2003). La planta de la granadilla (*Passiflora ligularis J.*), es originaria de América Central y Sudamérica occidental, desde Colombia, Venezuela, Ecuador, el sur de Perú y el oeste de Bolivia. Aunque también se produce en Kenia, Costa de Marfil, sur de África y Australia (García, M. 2008).

La granadilla en Bolivia, es nativa y cultivada en los bosques húmedos de tierras bajas y Yungas del departamento de La Paz, asimismo este fruto puede ser encontrado en los valles interandinos secos, de altitudes de 0-500 y 1000-3000 m.s.n.m., y su producción se da durante todo el año (Justiniano, H.). También se tiene el cultivo de granadilla, en la Provincia Larecaja, en el Municipio de Sorata, y sus cantones Obispo Bosque, Ilabaya, Chuchulaya y Lijuata (Quelca, W. 2018).

El fruto de la granadilla (*Passiflora ligularis J.*) es rica en nutrientes, contiene proteínas, carbohidratos entre ellos glucosa, fructosa y sacarosa, fibra, ácido ascórbico, calcio, fósforo, hierro y vitaminas (Lopez et. al. 2006) y en el mesocarpio (residuos), se encuentran las pectinas.

La pectina es un polisacárido, extraído generalmente de las plantas, que presenta en su estructura básica unidades del Ácido D-galacturónico y el éster metílico de este ácido, formando un polímero de varias unidades, el mismo que dependiendo del material vegetal y su estado de madurez, contiene entre 50 y 2000 unidades de Ácido D-galacturónico o galacturonato. (Nuffield Foundation, 1984). La pectina ha alcanzado una enorme importancia en el sector industrial alimenticio, especialmente por tener diversas aplicaciones, como ser agente gelificante, espesante, estabilizante y emulsionante; se emplea en la producción de jaleas, mermeladas, néctares, jugos y otros. También puede ser empleado en la industria farmacéutica, biotecnológica y la cosmética. Su forma de presentación y comercialización puede ser en forma sólida o líquida. (Herbstreith y Fox, 2003, citado por Lira, A. 2009).

1.1 Antecedentes

La pectina es un polisacárido complejo que se encuentra en la pared celular de los vegetales, principalmente en frutas, que tiene su importancia por sus usos como aditivo en varios sectores industriales, ya que es empleado como agente gelificante, espesante, emulgente y estabilizante. Asimismo, las fuentes tradicionales de pectina comercial son las cáscaras de cítricos y el bagazo residual de la extracción del zumo de manzanas.

Los residuos orgánicos generados por el consumo de frutas y otros vegetales están cobrando importancia como fuente de pectinas alternativas, contribuyendo de esta manera a disminuir el impacto ambiental y generando un valor agregado a estos residuos. En ese sentido, se han desarrollado varias investigaciones buscando optimizar la extracción de pectinas de fuentes orgánicas, entre las cuales podemos citar los siguientes:

Cuesta y Muñoz (2012), realizaron la extracción de pectinas a partir de la corteza de maracuyá (*Passiflora edulis var. Flavicarpa degener*) mediante una hidrólisis ácida con HCl. Se probaron tres valores de pH: 2; 3 y 4, con calentamiento y agitación durante una hora. Después de transcurrido el tiempo de hidrólisis, se precipitó la pectina, mediante la adición de 1,5 volúmenes de etanol al 95 %. Se lavó el precipitado con etanol al 60 % y se secó en la estufa a 60 °C; alcanzando un rendimiento de extracción del 14,2 %. La pectina extraída de la corteza de maracuyá se purificó con carbón activado, se determinó que el mejor proceso de extracción fue realizado con la corteza de maracuyá libre de la capa superficial amarilla, a un valor de pH 3. En estas condiciones, la pectina extraída presentó un grado de esterificación del 90,9 %, con un contenido del 83,6 % de ácido anhidro galacturónico, un 13,4 % de metoxilos y con un tiempo de gelificación de 4 min.

Rodriguez y Roman (2004), realizaron la extracción y evaluación de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi*, en sus resultados hallaron que la variedad *Citrus paradisi* proporciona un mayor rendimiento de pectina (39,56 %), que la variedad *Citrus sinensis* (12,52%), en condiciones de pH 3,2 y tiempo de extracción de 75 min. manteniendo constante la temperatura a 85 °C, en ambas variedades de naranja, respecto al grado de esterificación sus resultados

mostraron un alto grado y las mismas son utilizadas en las industrias alimenticias y farmacéuticas, mientras que los resultados a pH de 2,5 y 2,8 son de bajo éster, las cuales se utilizan como sustitutos de proteínas.

El grupo de investigación de Chasquibol et al. (2008), realizaron la extracción de pectinas en frutos peruanos en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Industrial de la Universidad de Lima, donde al realizar varios ensayos en varias frutas escogieron a la Granadilla (*Passiflora ligularis*) y al Níspero (*Nespilus germánica*), que destacaron por su alto contenido de pectina. La extracción de pectina se realizó con HCl 0,003 N a pH 2,5, a la temperatura de 90°C y por un tiempo de extracción de 75 minutos; los rendimientos obtenidos fueron, para la pulpa del níspero de la sierra 23,85% y grado de esterificación de 86,24 %, y para el mesocarpio de la granadilla un rendimiento de 21,60 %, con grado de esterificación de 88,79 %.

Untiveros, G. (2003), realizó una investigación de obtención de pectinas de alto y bajo metoxilo a partir de la manzana variedad Pachacamac, caracterizándolo mediante su contenido de pectina y por análisis proximal. Las condiciones óptimas de extracción que determinó fueron: relación materia prima solvente acidulado de 1:16, el pH de 1,6, temperatura de 90 °C y un tiempo de 75 min. Los resultados de las pectinas obtenidas fueron en la pectina de alto metoxilo: 11.59 % de metoxilos, 76,30 % de Ácido anhidro galacturónico y peso molecular de 104900. Se analizó la pectina de alto metoxilo por Espectroscopía Infrarrojo, donde se obtuvo un espectro con las señales de los grupos funcionales correspondientes a una pectina comercial.

1.2 Problemática

La generación de residuos orgánicos cada vez va en aumento debido al constante crecimiento demográfico, estos residuos se generan en hogares, en industria y en actividades agrícolas. La acumulación de residuos orgánicos en los botaderos municipales de diversos lugares y una mala gestión promueve la contaminación del medio ambiente, generando lixiviados que afectan directamente al suelo, malos olores, gases, proliferación de vectores y microorganismos. No obstante, se han desarrollado mecanismos para aprovechar estos residuos, como ser la economía circular para mitigar la contaminación, entre los cuales están: el compostaje, la biodigestión, entre otros.

Bolivia, al tener diversos pisos ecológicos en todo el territorio, es productora de una diversidad de frutas en diferentes temporadas del año, las cuales se comercializan mayormente en el área urbana. La granadilla (*Passiflora ligularis J.*) es un fruto de sabor agradable, que contiene un alto valor nutritivo, por ello su consumo va en aumento, asimismo, la producción de granadilla se realiza durante todo el año; y su consumo genera una gran cantidad de residuos orgánicos, entre ellos la cascara, que contiene al mesocarpio donde se encuentran las pectinas.

Por otro lado, se tiene pocas referencias bibliográficas referidas a la extracción de pectina del mesocarpio de la granadilla; por lo que se conoce muy poco en cuanto a las metodologías y condiciones óptimas de extracción para obtener una pectina de calidad y con altos rendimientos.

CAPITULO 2

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Obtener la pectina a partir del mesocarpio de la granadilla (*Passiflora ligularis J.*) mediante hidrólisis ácida.

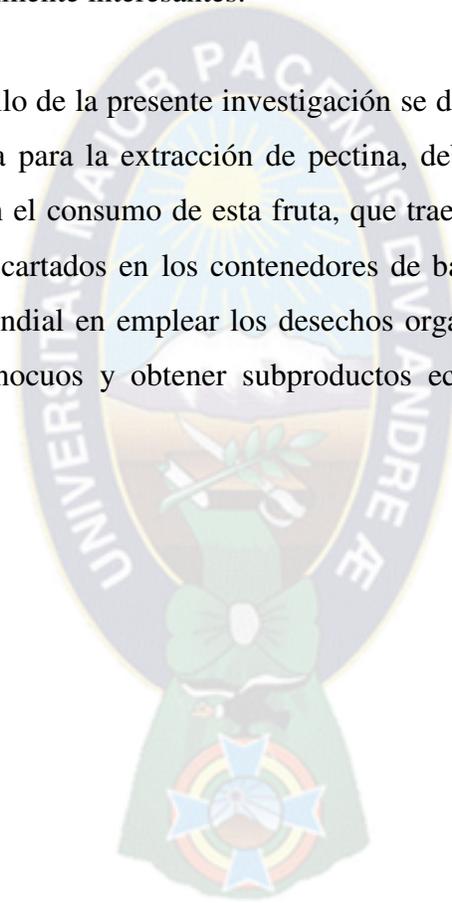
2.2 Objetivos específicos

- Extraer la pectina del mesocarpio de la granadilla por hidrólisis ácida empleando Ácido clorhídrico y Ácido cítrico variando el pH y temperatura.
- Extraer la pectina del mesocarpio de la granadilla por hidrólisis ácida empleando EDTA variando la concentración y temperatura.
- Evaluar el efecto del empleo de distintos ácidos, pH y temperatura en la extracción de pectina, mediante análisis de varianza.
- Determinar el peso equivalente (PE), acidez libre (AL), porcentaje de metoxilo (%ME) y grado de esterificación (GE) de la pectina por valoración ácido-base.
- Caracterizar la pectina extraída empleando la técnica de Espectroscopía Infrarrojo.

2.3 Justificación

Bolivia es considerado un país agrícola con mucha diversidad de cultivos, entre los cuales se encuentra la Granadilla (*Passiflora ligularis J.*), la mayoría de la producción nacional se consume como fruta fresca y para el consumo local. Sin embargo, al consumirlas se aprovecha la pulpa de la fruta, desechando la cáscara y su mesocarpio. Cabe mencionar que los residuos vegetales contienen importantes cantidades de compuestos potencialmente interesantes.

Para el desarrollo de la presente investigación se define emplear el mesocarpio del fruto de la granadilla para la extracción de pectina, debido a que en los últimos años existe un aumento en el consumo de esta fruta, que trae consigo grandes volúmenes de residuos que son descartados en los contenedores de basura. Por otro lado, existe una tendencia a nivel mundial en emplear los desechos orgánicos, como una alternativa de recuperar residuos inocuos y obtener subproductos económicos, dándoles un mayor valor agregado.



CAPITULO 3

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Granadilla

La Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) es una de las principales especies del género *Passiflora*, se origina en América Tropical, por lo que se encuentra distribuida en forma silvestre desde México hasta Venezuela, y de Perú hasta Bolivia (Cerdas & Castro, 2003).

La planta de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) es originaria de los altiplanos húmedos de la zona Andina del continente americano, encontrándose distribuida desde México hasta Argentina, aunque también se produce en Kenia, Costa de Marfil, sur de África y Australia (García, 2008).

La fruta de la granadilla es muy apetecida por su sabor dulce, aromático, y por su valor nutricional. Este fruto tiene una cáscara dura, lisa y cerácea, tiene un saco membranoso donde se encuentra su pulpa gelatinosa, jugosa, transparente, dulce y aromática, compuesta por varias pequeñas semillas comestibles, de color café oscuro o negro (López et al. 2006). En la Figura 1 se presenta una imagen del cultivo de la granadilla.



Figura 1. Cultivo de la granadilla

Fuente: Agencia Andina. <https://andina.pe/agencia/noticia-huanuco>

3.1.1 Descripción botánica de la planta

La granadilla es una planta del tipo enredadera, con tallos cilíndricos, hojas glabras con forma acorazonada, de 8 a 14 cm de largo, su color es verde oscuro a azulado, su peciolo tiene tres pares de glándulas finas y alargadas. Sus flores miden de 6 a 8 cm de diámetro, sus sépalos y pétalos son de color blanco y amarillo, presentando una corona con bandas alternas de color violeta y blanco dulce (Arias, 2014).

El fruto de la granadilla es una cápsula ovoide o elíptica, sostenida con un pedúnculo largo de 6 a 12 cm; el epicarpio del fruto es de consistencia dura, de color amarillo con puntos blancos, aunque el color es variable según sea el estado de su madurez; el mesocarpio es de consistencia esponjosa de color blanco de 5 mm de espesor dulce (Arias, 2014).

Las semillas de la granadilla tienen forma elíptica y plana, de color negro rodeados de un arilo transparente y gelatinoso, que es la parte comestible, la cual se constituye de varios carbohidratos, compuestos ácidos y otros que le confieren un sabor dulce (Arias, 2014).



Figura 2. Planta de la granadilla

Fuente: <https://ar.pinterest.com/pin/839147343058985717/>



Figura 3. Fruto de la granadilla

Fuente: <https://ar.pinterest.com/pin/493144227959831158/>

3.1.2 Clasificación taxonómica de la granadilla

La clasificación taxonómica de la granadilla fue realizada por A. L. de Juss en el año 1865 cuando se hacía la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada. La planta de la granadilla pertenece a la familia de las Passifloraceae y su clasificación taxonómica es la siguiente (Arias, 2014):

Reino:	<i>Vegetal</i>
División:	<i>Angiospermas</i>
Clase:	<i>Dicotiledoneas</i>
Orden:	<i>Violales</i>
Familia:	<i>Passifloraceae</i>
Género:	<i>Passiflora</i>
Especie:	<i>P. ligularis</i>
Nombre científico:	<i>Passiflora ligularis</i> Juss

3.1.3 Composición nutricional de la granadilla

La granadilla es un fruto con un sabor dulce y aromático, contiene como componente principal agua, alto contenido de carbohidratos (fructosa, glucosa y sacarosa), vitamina C y un bajo contenido de sodio. Estudios revelan que tiene una alta actividad antioxidante preventiva contra enfermedades crónicas (López et al. 2006).

Tabla 1. *Composición nutricional del fruto de la granadilla*

Componentes	Unidades	Contenido en 100g
Agua	g	72-80
Proteínas	g	2,2
Carbohidratos	g	23,38
Energía	kcal	97
Grasa	g	0,7
Fibra	g	10,4
Calcio	mg	12,0
Fósforo	mg	68,0
Hierro	mg	1,6
Magnesio	mg	29
Sodio	mg	28
Potasio	mg	348
Vitamina C	mg	30
Niacina-B3	mg	1,5
Vitamina A	IU	1272

Fuente: USDA, (2013), citado por Gironés-Vilaplana, et al. (2014).

Chasquibol et al. (2008) realizaron un análisis proximal del mesocarpio de la granadilla para determinar su composición básica, el cual que se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. *Análisis proximal del mesocarpio de la granadilla*

Componente	Contenido [%]
Humedad	87,78
Cenizas	1,96
Proteínas	0,54
Grasas	0,61
Carbohidratos	6,05

Fuente: Chasquibol et al. (2008)

3.1.4 Madurez fisiológica del fruto de granadilla

Un indicador de madurez en frutas es el cambio de coloración en su epidermis; en las frutas del género passifloráceas la característica más notable en el cambio de madurez de igual manera es el cambio de coloración de su epidermis (Schotsmans y Fischer, 2011, citado por Melgarejo, 2015).

La Granadilla (*Passiflora ligularis J.*) en el estado más inmaduro de su fruto es de color verde oscuro, que conforme va madurando ocurre un cambio de coloración en su epidermis que va tomando una coloración amarilla; esto se debe principalmente a la

aparición de pigmentos como los carotenoides, que son los responsables de la coloración amarillo-anaranjado (Valpuesta et al., 1996).

En la granadilla se han establecido seis grados de estado de madurez fisiológica en función del color externo de la epidermis, que va desde una escala numérica de 0 a 6, siendo la mayor puntuación como un estado maduro, tal como se muestra en la Figura 3. (ICONTEC, 1997).

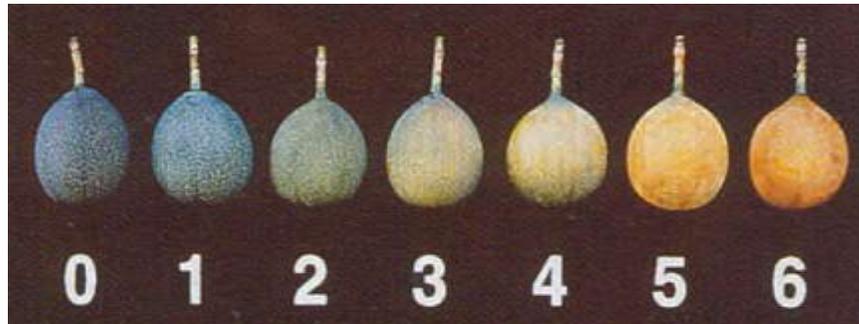


Figura 4. Estados de madurez de la granadilla

Fuente: ICONTEC (1997)

3.2 Generalidades de la pectina

La pectina fue descubierta en 1790 cuando Vauquelin encontró en primer lugar una sustancia soluble de los zumos de fruta. El científico francés Braconnot continuó el trabajo de Vauquelin y encontró que una sustancia ampliamente disponible de plantas ya observada en el pasado, tenía propiedades gelificantes cuando se le añadía ácido a su solución. La llamó "pectina ácida" del griego "pectos" que significa sólido coagulado. En 1825, el químico francés Henri Braconnot aisló las pectinas por primera vez, reconociendo su papel en esos productos. La producción comercial de pectinas comenzó en 1908 en Alemania, a partir de los restos de la fabricación de zumo de manzana. Actualmente se obtienen de los restos de la extracción de zumo de manzana y más de la industria de los zumos de cítricos. La pectina de manzana suele ser de un color algo más oscuro, debido al pardeamiento enzimático. La pectina se extrae con agua caliente acidificada, precipitándola con etanol o con una sal de aluminio (Belitz et al. 2012).

3.2.1 Definición de pectina

Las pectinas son un grupo de heteropolisacáridos, su componente principal es el ácido poligalacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol; se presentan en la naturaleza como elementos estructurales del sistema celular de las plantas, principalmente en las frutas y vegetales, para aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio del agua dentro del sistema (Herbstreith, 2001, citado por Devia, 2003).

La pectina se define comúnmente como ácidos pectínicos solubles en agua con diversos contenidos de éster metílico, los cuales tienen la capacidad de formar geles cuando se combinan con azúcar y ácido bajo las condiciones adecuadas (Thakur et al., 1997 citado por Narasimman, 2016).

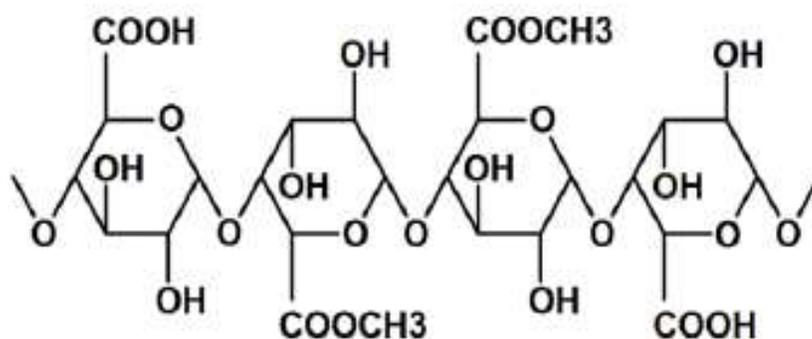


Figura 5. Estructura básica de la pectina

Fuente: http://www.scielo.org.bo/img/revistas/riyd/v1n15/a07_figura_01.gif

3.2.2 Pared celular vegetal y la pectina

La pared celular vegetal es una estructura rígida que encierra y delimita a las células vegetales, cumple diversas funciones vitales, como defensa ante patógenos, controla el crecimiento de las plantas, absorbe transporta y secreta sustancias necesarias para el desarrollo de las plantas. Se constituye mayormente por celulosa, que viene a ser como el esqueleto, formando filamentos llamados microfibrillas, a la que se incrustan la hemicelulosa y sustancias pecticas, con las que forman una matriz, dándole plasticidad, rigidez y resistencia a algún tipo de degradación (Vargas, 2011).

En frutos inmaduros, la pectina está unida a microfibrillas de celulosa en las paredes celulares y se llama protopectina. La protopectina es un polisacárido insoluble y por tanto, confiere rigidez a la célula (Mao et al., 2021, citado por Kumar et al. 2023).

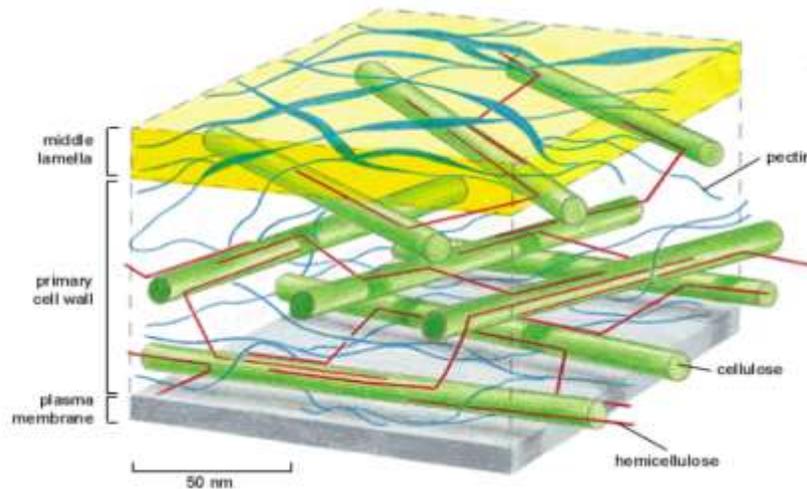


Figura 6. Estructura de la pared celular vegetal y sus componentes

Fuente: Robledo y Vásquez (2020), citado por Kumar et al. (2023)

Las formas de unión entre moléculas pécticas y otros componentes en la pared celular pueden darse de la siguiente manera: enlaces covalentes entre moléculas pécticas y otros constituyentes celulares (hemicelulosas); puentes de hidrógeno entre poligalacturónidos y otros componentes; uniones entre cationes divalentes especialmente Ca^{2+} y las funciones ácidas, originando la insolubilización de las sustancias pécticas poco esterificadas y una reducción en el aumento de las altamente esterificadas; un entramado físico-mecánico entre moléculas pécticas o con otros polímeros de la célula (Doesburg, 1965, citado por Gilabert, 1995).

3.2.3 Estructura de la pectina

Las sustancias pécticas comprenden un grupo de heteropolisacáridos cuya estructura básica está compuesta por moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces α -D-(1-4) glicosídicos que componen la cadena principal, y ramificaciones de diferentes monómeros unidos por enlaces α -(1,2) de unidades de L-ramnosa, arabinosa, galactosa y xilosa (Kashyap, et al. 2001, citado por Mendoza y Sarmiento 2016)

La estructura de las pectinas puede variar en su longitud de la cadena y la composición glucosídica, donde se reconoce que está constituida por tres polisacáridos pécticos, teniendo principalmente al ácido galacturónico en su estructura, los cuales son (Willats et al., 2006, citado por Lozada, MA, 2007):

- Homogalacturano (HG): es un polisacárido de forma lineal, teniendo en su composición a (1-4)- α -D-ácido galacturónico.
- Ramnogalacturano I (RGI): es un polisacárido con una estructura compuesta por el disacárido [-4)- α -D-AGal-(1-2)- α -L-Ram-(1-)], donde van unidas a las ramnosas con cadenas de arabinosas y galactosas.
- Ramnogalacturano II (RGII): es un polisacárido donde su cadena principal es un homogalacturano en vez de un ramnogalacturano, donde van unidas al ácido galacturónico cadenas laterales conformadas de varios azúcares.

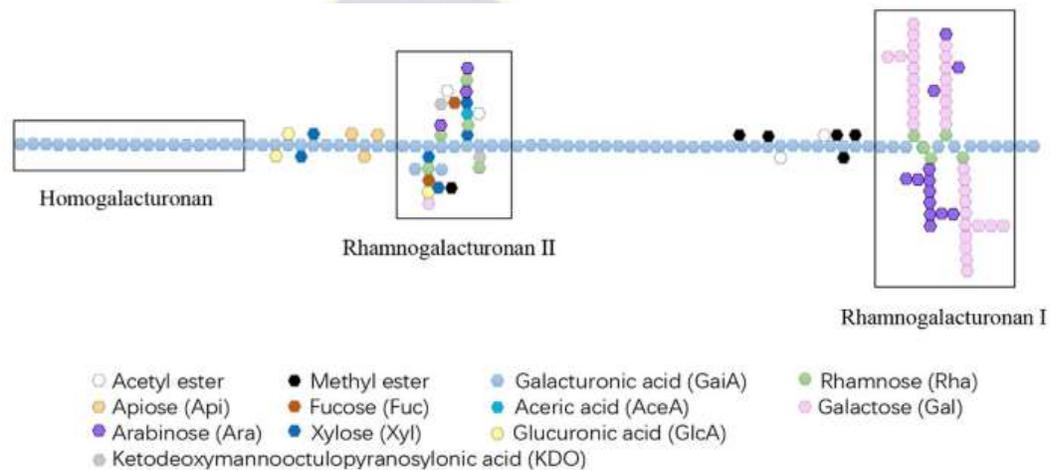


Figura 7. Estructura convencional de la pectina

Fuente: Zheng *et al.*, 2021

3.2.4 Clasificación de las sustancias pécticas

Según el número de grupos carboxílicos que se encuentran esterificados en la cadena o polímero, se clasifica en:

3.2.4.1 Protopectinas

Las protopectinas son polisacáridos altamente esterificados con metanol y muy solubilidad en agua. Se localizan en los tejidos inmaduros de los frutos y desempeñan un papel fundamental en la generación de su textura rígida. No obstante, la acción de la enzima protopectinasa provoca su transformación en pectinas solubles o ácido pectínico, un proceso que tiene lugar durante el proceso de maduración y conlleva al ablandamiento del fruto (Badui, 2006).

3.2.4.2 Ácidos Pectínicos

Son ácidos poligalacturónicos que tienen una porción variable de sus ácidos poligalacturónicos como ésteres metílicos (Badui, 2006). Las sales de los ácidos pectínicos pueden ser tanto pectinatos normales como ácidos. En condiciones apropiadas, los ácidos pectínicos tienen la capacidad de formar geles cuando están en presencia de azúcares y ácidos, o si tienen un contenido adecuadamente bajo de grupos metoxilo, pueden formar geles con ciertos iones metálicos (Neill, 2001, citado por Jeilu, 2017).

3.2.4.3 Pectinas

La pectina se refiere a un material polimérico soluble en agua, presenta diversos niveles de esterificación con metanol y tiene la capacidad de formar geles cuando se combina con azúcar y ácido bajo condiciones adecuadas (Hoondal et al., 2002, citado por Kumar, 2023).

3.2.4.4 Ácidos Pécnicos

Los ácidos pécnicos son un tipo de sustancias pécnicas que consisten principalmente en ácidos poligalacturónicos coloidales y están libres de grupos éster metílico. Se forman principalmente tras la degradación del tejido debido a la acción de la pectina metilesterasa. Las sales de ácido pécnico se conocen como pectatos. (Sharma y Satyanarayana, 2006, citado por Kumar, 2023).

3.2.5 Tipos de pectina

3.2.5.1 Pectina de alto metoxilo

Las pectinas de alto metoxilo, conocidas como pectinas HM (High metoxil), son aquellas que tienen más del 50% de grupos carboxílicos esterificados con metanol; forman geles en productos con más del 50% de azúcares, a pH entre 2,2 y 3,3 y con un contenido de pectina del 0,3 al 0,5%. A su vez se dividen en pectinas: Rapid set, Medium rapid set y Slow set, su tiempo de gelificación es corto, medio y largo respectivamente; y con una temperatura de gelificación alta, media y baja respectivamente; donde la rapid set está más esterificada y la Slow set menos esterificada (Boatella et al., 2004).

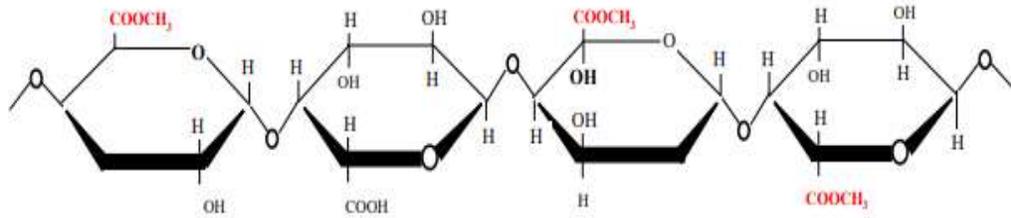


Figura 8. Estructura de pectina de alto metoxilo

Fuente: Belkheiri et al. (2021)

3.2.5.2 Pectina de bajo metoxilo

Las pectinas de bajo metoxilo, conocidas como LM (Low metoxil), tiene menos del 50% de grupos carboxílicos esterificados, pueden gelificar en productos con bajos porcentajes de azúcares (menor a 50%) y a pH más altos. Sin embargo, se necesita la presencia de iones calcio para formar geles (Boatella et al., 2004).

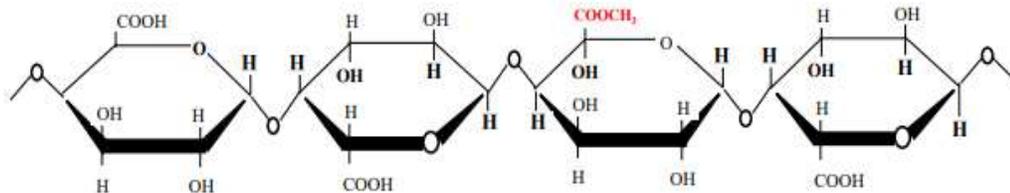


Figura 9. Estructura de pectina de bajo metoxilo

Fuente: Belkheiri et al. (2021)

3.2.6 Aplicaciones de la pectina

Las pectinas desempeñan un papel importante en la industrialización de las frutas, como la elaboración de jaleas, gelatinas o geles similares y sobre todo en la elaboración de bebidas. Asimismo, las pectinas se emplean en la elaboración de productos de relleno y de glaseado en panificación, para la estabilización de productos lácteos y en la industria de la confitería (Valdez-Martinez, 2006).

3.3 Espectroscopia Infrarrojo

La Espectroscopía Infrarroja se sitúa en el espectro electromagnético aproximadamente entre los 200 – 12500 cm^{-1} ; la longitud de onda normalmente se expresa en número de onda o frecuencia ($1/\lambda$, cm^{-1}) o en micras (μm). La radiación infrarroja se divide en tres regiones: infrarrojo cercano, medio y lejano. El más

empleado es la región media ubicada entre 4000 y 650 cm^{-1} , puesto que ofrece mayor cantidad de información cualitativa sobre los grupos funcionales de la estructura de las moléculas ((Bruce, 2011, citado por Ponce et al. 2023).

Esta espectroscopia se basa en la absorción de la radiación Infrarroja, la misma que provoca alteraciones en los modos de vibración de las moléculas. Para que exista absorción debe darse una energía equivalente a la vibracional, esto quiere decir que, cuando las moléculas absorben radiación Infrarroja, éstas entran en un estado vibracional excitado, que posteriormente se disipa en forma de calor al regresar al estado basal; cada tipo de enlace entre átomos absorbe a diferentes longitudes de onda (Fressenden, 2003, citado por Ponce et al. 2023).

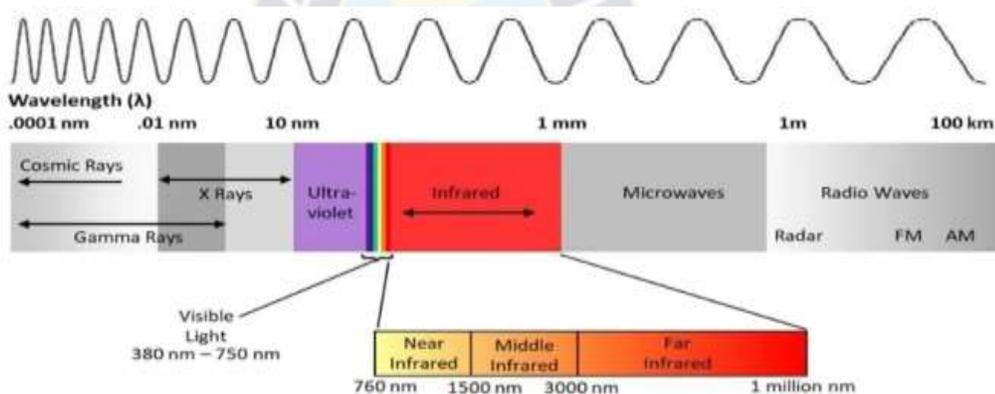


Figura 10. Espectro electromagnético y sus regiones

Fuente: <https://www.azooptics.com/Article.aspx?ArticleID=1666>

3.3.1 Aplicación de la espectroscopia Infrarrojo

La espectroscopia infrarrojo se utiliza más en el análisis cualitativo de las moléculas, puesto que los distintos enlaces y grupos funcionales absorben energía a frecuencias diferentes; con ello se logra determinar los tipos de grupos que hay en una molécula. Los enlaces simples de N-H, O-H y C-H suelen vibrar a frecuencias más altas que otros enlaces; luego en menor frecuencia están los triples enlaces, que son más fuertes que los dobles y los simples y requieren radiación de alta frecuencia, así en un triple enlace carbono-carbono vibra entre 2100 - 2260 cm^{-1} , un doble enlace vibra entre 1600 - 1670 cm^{-1} y un simple enlace entre 800 - 1200 cm^{-1} ; por otro lado un doble enlace

carbono-oxígeno vibra entre 1660-1780 cm^{-1} y un simple enlace entre 1000-1300 cm^{-1} (Bailey, 1995).

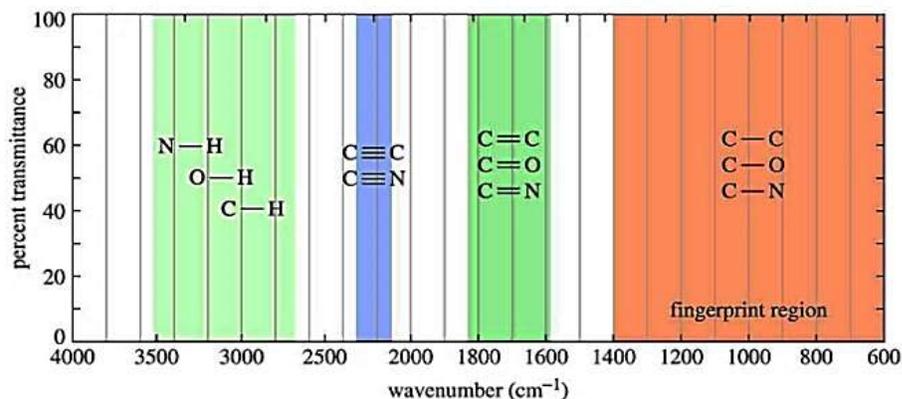


Figura 11. Grupos funcionales y sus regiones en el Infrarrojo

Fuente: <http://utdallas.edu/~scortes/ochem>

3.4 Diseños experimentales

Gutierrez y De la Vara (2008), señalan que, un diseño experimental es el método para generar conocimiento científico respecto a un proceso o sistema, donde se aplican pruebas experimentales o tratamientos planificados en base a reglas, que nos permiten comprender mejor las relaciones entre causa y efecto en diversas situaciones; todo esto fundamentado en el método científico.

Melo et al. (2020), señalan que un diseño experimental es una serie de pruebas que busca comprender las variables de estudio más influyentes en dicho experimento, evaluados por medio de variables de respuesta en un proceso o sistema de interés, de tal manera que al aplicar cambios en las variables de estudio sea posible cuantificar los cambios generados en las variables de respuesta.

3.4.1 Experimentos factoriales

Los experimentos factoriales son aquellos en los que se estudian o comparan simultáneamente dos o más factores de estudio con sus respectivos niveles, los cuales al combinarlos originarán varios tratamientos (Benitez et al. 2010).

En experimentos factoriales una técnica estadística para analizar el efecto de dos ó más variables independientes o factores sobre una variable de respuesta, es el Anova. Las bondades del Anova es que permite evaluar cuál factor independiente tuvo o no mayor influencia sobre la variable de respuesta; permite además evaluar los efectos de las interacciones de los factores. Se dice que entre dos factores hay interacción si la

respuesta de un factor es influenciada en forma diferenciada por los niveles del otro (Fernández, 2020).

En un experimento de dos factores de n réplicas el modelo estadístico de este diseño quedaría de la siguiente forma:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Siendo:

μ = Media poblacional

τ_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B

$(\tau\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre Factor A y B

ε_{ijk} = Error aleatorio.

3.4.2 Prueba de hipótesis

Una prueba de hipótesis es el procedimiento estadístico que consiste en establecer una aseveración o hipótesis respecto a una característica de estudio de una población y que por medio de procedimientos estadísticos nos permite aceptar o rechazar la hipótesis planteada inicialmente frente a una hipótesis alterna (Walpole, R. 1999). Así, se puede plantear la hipótesis nula y alterna de la siguiente manera:

Hipótesis nula: $H_0: \mu_1 = \mu_2$

Hipótesis alterna: $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$

Para tomar la decisión de aceptar o rechazar la hipótesis nula, se emplea el valor P, que es un valor de probabilidad que va de 0 a 1. En una prueba de hipótesis se compara el valor de P obtenido con el valor α , donde se puede tener dos casos (Molina, 2017):

Si $p > 0,05$ significa que la hipótesis nula es verdadera

Si $p < 0,05$ significa que la hipótesis nula es falsa

CAPÍTULO 4

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Ubicación del trabajo de investigación

El presente proyecto de investigación se realizó en el laboratorio del Área de Físicoquímica de la Carrera de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés UMSA, ubicado en el Campus universitario de la Zona de Cota Cota en la ciudad de La Paz.

4.2 Equipos Materiales y Reactivos

4.2.1 Equipos y materiales

Tabla 3. *Equipos y materiales empleados en Laboratorio*

Equipos y materiales	Características	Ubicación
Plancha de calentamiento	Thermo Scientific Cimarec	Lab. Físicoquímica
pH metro	pH Meter Hanna Instruments	Lab. Físicoquímica
Termómetro	0-120 °C	Lab. Físicoquímica
Balanza analítica	Qhaus – Adventurer TM	Lab. Físicoquímica
Espectroscopio FT-IR	Thermo Scientific FTIR Summit-ATR Everest	Noster Tec SRL.
Estufa eléctrica		Lab. Físicoquímica
Refrigerador	LG-electronics	Lab. Físicoquímica
Material volumétrico (matraces, bureta, pipeta, vasos, etc.)	Material de vidrio	Lab. Físicoquímica

4.2.2 Reactivos

Tabla 4. *Reactivos empleados en Laboratorio y su aplicación*

Reactivos	Características	Aplicación
Ácido clorhídrico	37%	Hidrólisis
Ácido cítrico	Grado p.a.	Hidrólisis
EDTA	Grado p.a.	Hidrólisis
Etanol	96°	Precipitación, esterificación
Fenolftaleína	Indicador	Estandarización
Indicador Mixto	Indicador	Estandarización
Rojo fenol	Indicador	Indicador en esterificación
Carbonato de sodio anhidro	Grado p.a.	Estandarización de HCl
Ftalato ácido de potasio	Grado p.a.	Estandarización de NaOH
Hidróxido de sodio	Grado p.a.	Valoración de pectinas

4.3 Procedimiento Experimental

4.3.1 Materia prima para extracción de pectina

La granadilla empleada en este trabajo de investigación fue adquirida en la feria de frutas y verduras de la Zona Villa Dolores de la ciudad de El Alto. Sin embargo, la vendedora indica que esta granadilla es procedente de la Comunidad Charapaxi, de la Provincia Inquisivi del departamento de La Paz. En la Figura 12 se presenta la ubicación de Charapaxi, cuyas coordenadas geográficas y altitud son:

- Latitud: 16,83973° o 16° 50' 23" sur
- Longitud: 67,18074° o 67° 10' 51" oeste
- Altitud: 2.735 metros (8.973 pies)



Figura 12. Provincia Inquisivi, La Paz

Fuente: www.educa.com.bo/geografia/provincia-inquisivi-mapa

Se emplearon granadillas de la localidad de Charapaxi para la extracción de las pectinas, las cuales presentaron una coloración amarilla en su epidermis, lo que nos indica que estaban en un grado de madurez de 5 y 6, consideradas de madurez comercial. La cantidad empleada fue de 7 kg de fruta fresca.



Figura 13. Fruta de granadilla de la localidad de Charapaxi

4.3.2 Separación del mesocarpio

El mesocarpio fue separado de la cáscara de la fruta de la granadilla, para ello se empleó un cuchillo cortando la granadilla en dos mitades, luego se extrajo el mesocarpio de la cáscara con la ayuda de una cuchara, tratando de extraerlo lo más completo posible.



Figura 14. Granadilla partida a la mitad (izq). Mesocarpio separado (der).

4.3.3 Lavado

Se procedió a realizar el lavado del mesocarpio de la granadilla extraída de las cáscaras; para ello el mesocarpio fue cortado en pequeños trozos y luego colocados en una fuente con agua. Con el lavado se quita todo polvo o partículas que pudieran interferir en el proceso de hidrólisis.



Figura 15. Lavado del mesocarpio de la granadilla

4.3.4 Inactivación enzimática

La inactivación enzimática fue realizada colocando el mesocarpio en una olla metálica con agua a ebullición por un tiempo de 10 minutos; luego se escurrió el agua adherida en una coladera.



Figura 16. Inactivación enzimática del mesocarpio

4.3.5 Secado

El mesocarpio de la granadilla luego de la inactivación enzimática fue escurrido del agua y colocado en bandejas metálicas; luego se los coloca en una estufa a una temperatura de 45 °C por un tiempo de 24 horas para su secado.



Figura 17. Mesocarpio de la granadilla en la estufa (izq). Mesocarpio secado (der).

4.3.6 Triturado

Una vez secado el mesocarpio de la granadilla, se realizó el triturado con ayuda de una licuadora, se trituró para reducir su tamaño esto con el fin de aumentar el área de contacto en el momento de la hidrólisis ácida.



Figura 18. Mesocarpio de la granadilla en licuadora (izq). Mesocarpio triturado (der).

4.3.7 Hidrólisis

El mesocarpio triturado fue sometido a diferentes tratamientos para determinar la influencia de tipos de ácido, pH y temperaturas. Se realizó una hidrólisis ácida, empleándose tres tipos de ácido: Ácido clorhídrico, Ácido cítrico y Ácido etilendiamin tetraacético EDTA; se probaron tres valores de pH: 2,1; 2,5 y 2,9; y se trabajaron a dos temperaturas, 60 y 77 °C, todos los tratamientos fueron hidrolizados por un tiempo constante de 75 minutos en una plancha de calentamiento con agitación constante y bajo tres repeticiones. La relación utilizada mesocarpio/solvente fue de 1:50, donde se pesó 2 g de granadilla seca triturada para un volumen de 100 mL de solvente acidulado.



Figura 19. Hidrólisis en la plancha de calentamiento

4.3.8 Filtración

Al concluir el proceso de hidrólisis, se hizo la filtración para separar el extracto y los residuos sólidos del mesocarpio de la granadilla; para ello se empleó una tela organza (gaza) que es de un tejido muy fino, aplicándole una presión para expulsar el extracto retenido, el cual contiene a la pectina solubilizada.



Figura 20. Filtrado del mesocarpio

4.3.9 Precipitación y separación

Se procedió a la precipitación de la pectina empleando alcohol etílico al 96% en una relación de filtrado-etanol de 1:1, dejándolo en reposo a una temperatura entre 3-5°C por un tiempo de 24 horas. Al transcurrido este tiempo se formó una solución con dos fases, la acuosa y la etanólica, esta última contiene a la pectina con aspecto gelatinoso y transparente. Se filtró con la tela organza a doble capa para evitar pérdidas.



Figura 21. Precipitado con etanol (izq). Separación de la pectina precipitada (der)

4.3.10 Secado de la pectina

La pectina separada y filtrada se transfirió a cajas Petri previamente rotulados según los tratamientos correspondientes, y se colocaron en una estufa eléctrica a una temperatura de 40°C durante 24 horas.



Figura 22. Pectina en caja Petri (izq). Pectinas secando en la estufa (der).

4.3.11 Molienda

Teniendo la pectina seca en las cajas Petri, se procedió a separarlas con la espátula., y se hizo la molienda empleando un mortero de porcelana hasta tritararlo lo más fino posible y homogéneo.



Figura 23. Pectina seca en caja petri (izq). Molienda de la pectina en mortero (der).

4.3.12 Pesaje

Se realizó el pesado en una balanza analítica de la masa de la pectina seca y molida de cada uno de los tratamientos y sus repeticiones.



Figura 24. Pesada de la Pectina seca (izq). Pectina seca y molida (der).

4.3.13 Envasado

Las pectinas molidas fueron envasadas en frascos pequeños de plástico con sus respectivos etiquetados indicando el tratamiento y su repetición.



Figura 25. Envasado de las pectinas por tratamientos

4.4 Determinaciones Analíticas

4.4.1 Peso equivalente (PE)

Se empleó el método descrito por Owens et al. (1952) para la determinación del peso equivalente. Se tomó 0,10 g de la pectina, para luego colocarlos en un matraz Erlenmeyer, se agrega 5 ml de etanol al 96%, después se añadió 25 mL de agua destilada, por último, se añade 6 gotas de indicador fenolftaleína, se agitó verificando que la pectina esté disuelta por completa; y procedió a la titulación con NaOH 0,1 N hasta viraje de color amarillo a rosado.

Para la determinación del peso equivalente se calcularon relacionando la masa de la muestra y el volumen de hidróxido de sodio gastado en la titulación, mediante la siguiente fórmula:

$$PE = \frac{1000 * g \text{ de muestra}}{V(\text{NaOH}) "A" * N (\text{NaOH})}$$

Donde:

- g de componente ácido (pectina)
- V (mL) NaOH (gastados en la titulación)

4.4.2 Acidez libre (AL)

La determinación de la acidez libre se calcula relacionando los miliequivalentes de NaOH consumidos y el peso de la pectina en gramos (Owens, et al., 1952).

$$\text{Acidez libre} = \frac{V(\text{NaOH}) "A" * N (\text{NaOH})}{g \text{ de componente ácido}}$$

Donde:

- meq NaOH (utilizados en la titulación)
- g de componente ácido (pectina)

4.4.3 Porcentaje de metoxilo (ME)

Para determinar el porcentaje de metoxilo se siguió el método descrito por Owens et al. (1952). A la solución utilizada anteriormente en la determinación del peso equivalente y acidez libre, se le agrega 5 mL de NaOH 0,25 N, se agita, luego se deja reposar durante 30 min. a temperatura ambiente. Posteriormente se agrega 5 mL de HCl 0,25 N, para neutralizar el NaOH en exceso. Se agita la solución y se titula con una solución de NaOH 0,1 N tomando como punto final de la valoración un color rojo permanente por 20 s.

El cálculo de porcentaje de metoxilo se realiza empleando la siguiente formula:

$$\% \text{ metoxilo} = \frac{V(\text{NaOH}) B * N (\text{NaOH}) * 31}{\text{mg componente ácido}} \times 100$$

Donde:

- 31: es el peso molecular del metoxilo(CH₃O) expresado en mg/meq
- meq B: miliequivalentes de NaOH gastados en la titulación
- mg componente acido (peso de pectina)

4.4.4 Grado de esterificación (GE)

El porcentaje de grado de esterificación, se calcula relacionando los meq de B gastados en la titulación del porcentaje de metoxilación y la suma total de los miliequivalentes de A gastados de NaOH en la determinación de la acidez libre y los y los miliequivalentes B (FAO JECFA, 2009).

$$\%GE = \frac{\text{meq } B}{\text{meq } A + \text{meq } B} \times 100 \quad \text{ó} \quad \%GE = \frac{V_B}{V_A + V_B} \times 100$$

Donde:

- Meq B: miliequivalentes utilizados de NaOH gastados en la determinación del contenido de metoxilo.
- Meq A: miliequivalentes de NaOH gastados en la determinación de acidez libre.

4.5 Análisis por Espectroscopía Infrarrojo (FT-IR)

Se realizó análisis de espectroscopia de infrarrojo FT-IR de las muestras de pectina obtenidas con la finalidad de confirmar la presencia de grupos funcionales característicos de la pectina, los cuales fueron analizados y comparados con un espectro estándar de una pectina encontrada en literatura.



Figura 26. Espectroscopio FTIR de la Empresa Noster Tec SRL

4.6 Diseño experimental

El presente trabajo de investigación se dividió en dos etapas: en la Primera se emplearon Ácido clorhídrico y Ácido cítrico como agente hidrolizante y en la Segunda se empleó EDTA.

En la Primera etapa de la investigación se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo Factorial 2x3x2 y 3 repeticiones. Los factores de estudio fueron evaluados mediante un análisis de varianza con el Software de estadística Minitab 17.

Tabla 5. Factores en la experimentación con ácido clorhídrico y ácido cítrico

Factor A	Factor B	Factor C
Tipo de ácido	Niveles de pH	Temperatura
a1= HCl	b1=2,1	c1 = 60 °C
a2= ácido cítrico	b2=2,5	c2= 77 °C
	b3=2,9	

Fuente: Elaboración propia

Para esta parte de la investigación se usó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

μ = Media poblacional

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B

γ_k = Efecto del k-ésimo nivel del factor C

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el Factor A y B

$(\alpha\gamma)_{ik}$ = Efecto de la interacción entre el Factor A y C

$(\beta\gamma)_{jk}$ = Efecto de la interacción entre el Factor B y C

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Efecto de la interacción entre los Factores A, B y C

ε_{ijk} = Error aleatorio.

En la segunda etapa de la investigación se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con estructura Factorial 3 x 2 y 3 repeticiones. Los factores de estudio fueron evaluados mediante un análisis de varianza con el Software de estadística Minitab 17.

Tabla 6. Factores aplicados en la experimentación con EDTA

Factor A	Factor B
Concentración EDTA	Temperatura
a1= 0,5%	b1 = 60°C
a2= 0,75%	b2= 77°C
a3= 1,0%	

Fuente: Elaboración propia

Para esta segunda parte de la investigación se usó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

μ = Media poblacional

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A

β_i = Efecto del j-ésimo nivel del factor B

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el Factor A y B

ε_{ijk} = Error aleatorio.

4.6.1 Tratamientos

Los tratamientos resultantes de la combinación de los niveles de los factores en estudio son:

Tabla 7. *Tratamientos para la 1ra parte de la experimentación (HCl y ác. cítrico)*

Tratamiento	Combinación	Descripción
T1	a1b1c1	HCl- pH 2,1-60 °C
T2	a1b1c2	HCl- pH 2,1-77°C
T3	a1b2c1	HCl- pH 2,5-60°C
T4	a1b2c2	HCl- pH 2,5-77°C
T5	a1b3c1	HCl- pH 2,9-60°C
T6	a1b3c2	HCl- pH 2,9-77°C
T7	a2b1c1	Cit- pH 2,1-60°C
T8	a2b1c2	Cit - pH 2,1-77°C
T9	a2b2c1	Cit - pH 2,5-60°C
T10	a2b2c2	Cit - pH 2,5-77°C
T11	a2b3c1	Cit - pH 2,9-60°C
T12	a2b3c2	Cit - pH 2,9-77°C

Fuente: Elaboración propia

Total ensayos: 12 Tratamientos * 3 rep = 36 ensayos

Tabla 8. *Tratamientos para la 2da parte de la experimentación (EDTA)*

Tratamiento	Combinación	Descripción
T1	a1b1	0,5%-60 °C
T2	a1b2	0,5%-77 °C
T3	a2b1	0,75%-60°C
T4	a2b2	0,75%-77°C
T5	a3b1	1,0%-60°C
T6	a3b2	1,0%-77°C

Fuente: Elaboración propia

Total ensayos: 6 Tratamientos * 3 rep = 18 ensayos

CAPÍTULO 5

5 RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico variando pH y temperatura

5.1.1 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico a tres niveles de pH y 60 °C

Los rendimientos de extracción de pectina para los dos tipos de ácido a distintos niveles de pH y a una temperatura de 60 °C de hidrólisis se muestran en la Figura 27, donde se muestra que los mayores rendimientos de pectina se obtuvieron a un pH = 2,1 para ambos ácidos, no obstante, el ácido cítrico obtuvo un 20,30 %, mientras que el HCl un 11,08 % de rendimiento; asimismo, se observa que al aumentar el pH de hidrólisis los rendimientos disminuyen.

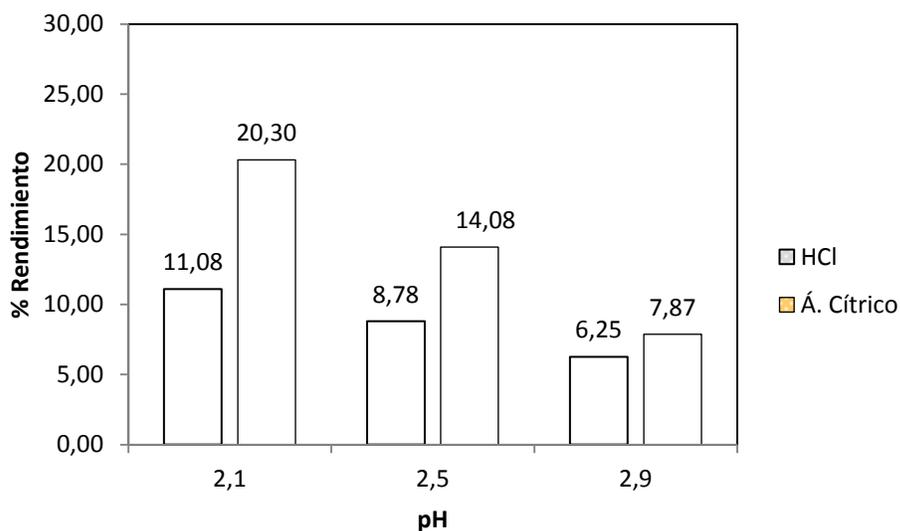


Figura 27. Rendimiento de pectina empleando HCl y ácido cítrico a 60°C

Fuente: Elaboración propia

5.1.2 Extracción de pectina con HCl y ácido cítrico a tres niveles de pH y 77 °C

Se registraron los rendimientos más altos de extracción de pectina a un pH de 2,1 tanto para el ácido cítrico como el HCl a la temperatura de hidrólisis de 77 °C, asimismo en la Figura 28, se observa que se obtienen mayores rendimientos empleando ácido cítrico en comparación con el HCl, obteniéndose un 34,0 % y 15,78 % respectivamente; cabe mencionar que a medida que aumenta el pH disminuyen los rendimientos.

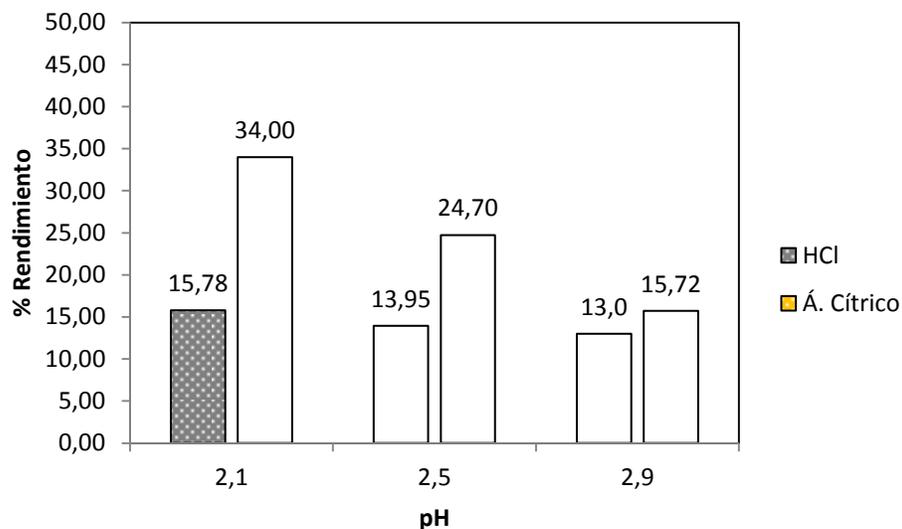


Figura 28. Rendimiento de pectina empleando HCl y ácido cítrico a 77°C

Fuente: Elaboración propia

Chasquibol *et al.* (2008), efectuaron la extracción de pectina del mesocarpio de la granadilla empleando HCl obteniendo un rendimiento de 21,60% a un pH de 2,5, a la temperatura de 90 °C y un tiempo de 75 min. . En la presente investigación se obtuvo un menor rendimiento de 14,07 % empleando HCl a las mismas condiciones de pH de 2,5 y tiempo de 75 min. , no obstante la temperatura aplicada fue menor (77 °C); esto podría ser un factor para el menor rendimiento de pectina.

Choolner (2020) reportó que obtuvo un rendimiento de pectina del albedo de pomelo de 8,5 % empleando HCl, a un pH de 3, temperatura de 80 °C y por un tiempo de 70 min. Sin embargo, Fernández (2023), realizó la extracción de pectina de albedo de toronja, donde obtuvo rendimientos de pectina elevados, del 49,18 %, con la diferencia que empleó ácido cítrico a un pH de 1,8, temperatura de 68 °C y 50 min. Se puede notar la diferencia en rendimiento de pectina entre el HCl y ácido cítrico, donde con esta última se obtiene mayores rendimientos de extracción.

Comparando estos resultados se observa, que el ácido cítrico obtiene un rendimiento mayor al de HCl en la extracción de pectina de la toronja. Este mismo comportamiento se repite en la extracción de pectina del mesocarpio de la granadilla de la presente investigación.

5.2 Extracción de pectina con EDTA variando Concentración y temperatura

5.2.1 Extracción de pectina a 0,5; 0,75 y 1,0% de EDTA y 60 °C.

En la Figura 29 se muestran los rendimientos de extracción de pectina con EDTA a una temperatura de 60 °C; donde se observa que a concentraciones de 0,5; 0,75 y 1,0 % de EDTA, los rendimientos fueron del y 14,7; 19,9 y 22,4 % respectivamente. Estos resultados indican que a medida que aumenta la concentración de EDTA, los rendimientos de extracción también se incrementan.

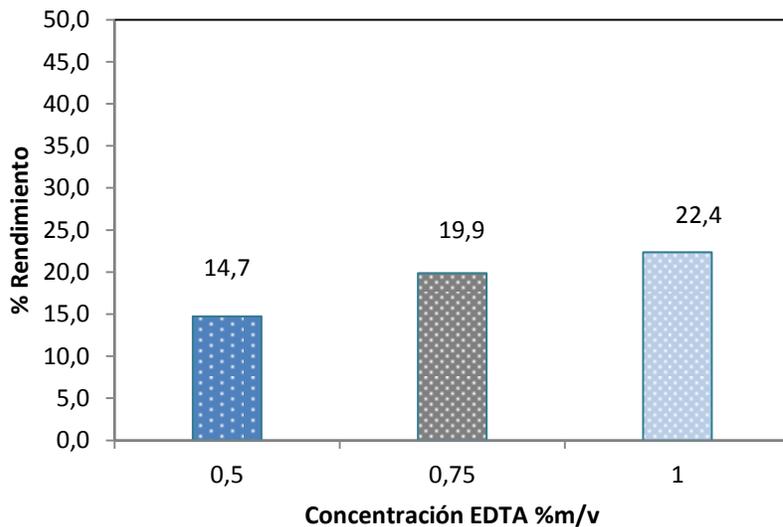


Figura 29. Rendimiento de pectina empleando EDTA a 60°C

Fuente: Elaboración propia

5.2.2 Extracción de la pectina a 0,5; 0,75 y 1,0 % de EDTA a 77 °C

La extracción a la temperatura de 77°C con concentraciones de EDTA del 0,5; 0,75 y 1,0 % lograron rendimientos del 31,4; 40,6 y 40,3 % respectivamente, mostrando las dos últimas concentraciones resultados similares (Figura 30). Este resultado sugiere que, a temperaturas más altas, la extracción de pectina con una concentración de EDTA del 0,75 % es suficiente para obtener rendimientos comparables a los obtenidos con concentraciones más altas.

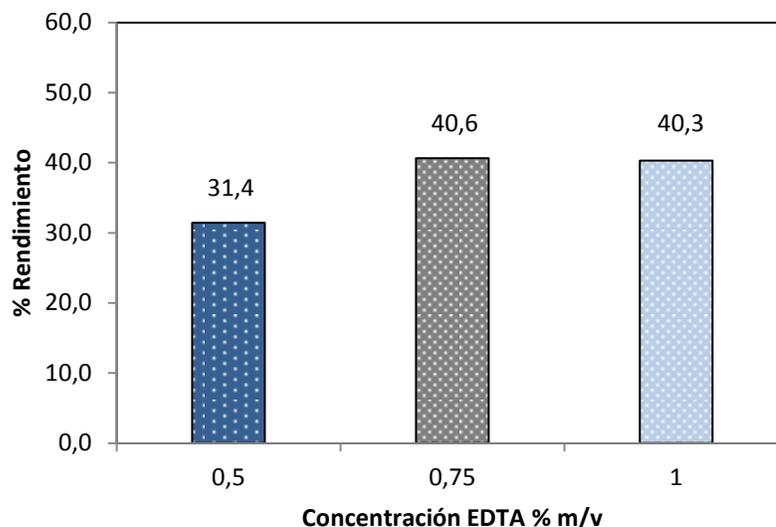


Figura 30. Rendimiento de pectina empleando EDTA a 77°C

Fuente: Elaboración propia

Lira (2009), en su investigación de extracción de pectina de cáscara de tunas reportó un rendimiento de 9,8 % de pectina cuando aplicó EDTA a una concentración del 1,0 % durante 2 horas a 70 °C. En otro estudio, Lozada (2007) llevó a cabo extracciones de pectina en cáscaras de tuna bajo condiciones de 80 °C de temperatura y 2 h de hidrólisis utilizando distintas concentraciones de EDTA: 0,25%, 0,5% y 1,0% con rendimientos del 1,8%, 4,2% y 8,7 %, respectivamente. Esto indica que a medida que aumenta la concentración de EDTA existe un incremento en el rendimiento de pectina.

El EDTA es un agente acomplejante, con la capacidad de capturar un ión metálico por medio de sus pares de electrones no compartidos de los grupos carboxilato y de los átomos nitrógeno (Laitinen y Harris, 1982). Al aplicar distintas concentraciones de EDTA en la hidrólisis del mesocarpio de la granadilla, es probable que haya efectuado su actividad quelante al formar complejos con los iones metálicos presentes en el mesocarpio, lo que favoreció la extracción de la pectina. Valenciaga y Chongo (2004) señalan que, la pared celular vegetal está constituida por fibrillas de celulosa, mientras que lámina media (matriz) es amorfa y se compone principalmente de compuestos pécticos e iones metálicos.

Jones (1978) menciona que, el calcio está asociado a la pectina en la pared celular, estudios en la planta *Holcus lanatus* demuestran que la pectina y la lignina de la

pared celular forman complejos con el calcio; del mismo modo, investigaciones en la pared celular de la planta *Agrostis spp* encontraron complejos de pectato con zinc. Los grupos funcionales que pueden estar involucrados en la unión con iones metálicos son los carboxilos presentes en las pectinas, así como los carboxilos e hidroxilos presentes en las ligninas, con los que formarían complejos estables.

La capacidad del calcio para formar complejos con la pectina está asociada con los grupos carboxilos libres de las cadenas de pectina (Anyas et al, 1950, citado por Gilabert, 1995). Además de los grupos carboxilos, se ha descrito que los enlaces de calcio pueden implicar otros grupos funcionales y pueden incluir interacciones con átomos de oxígeno, según Rees et al. (1982) citado por Gilabert, (1995). Esto muestra que un componente que está presente en las pectinas es el ion calcio,

Además, se han reportado complejos de calcio con carbohidratos, tanto neutros como ácidos. Estos complejos involucran enlaces de coordinación que utilizan los orbitales vacíos del ion calcio. Se enfatiza que el ion calcio es efectivo en la formación de estos complejos con carbohidratos (Angyal, 1989, citado por Gilabert, 1995).

5.3 Evaluación del efecto de los distintos tipos de ácido, pH y temperatura en la extracción de pectina a través de un Análisis estadístico

5.3.1 Análisis de varianza de Rendimiento de pectina con HCl y ácido cítrico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para el rendimiento de pectina del mesocarpio de la granadilla (Tabla 9) para: tipos de ácido, niveles de pH y temperatura a un nivel de confiabilidad del 95 %.

Tabla 9. Anova de rendimiento para tipos de ácido, pH y temperatura

Fuente de variación	GL	SC	CM	Valor-F	Valor-P
Acido	1	568,82	568,822	744,50	0,000
pH	2	551,11	275,554	360,66	0,000
Temperatura	1	597,80	597,802	782,44	0,000
Acido*pH	2	200,11	100,053	130,95	0,000
Acido*Temperatura	1	59,55	59,547	77,94	0,000
pH*Temperatura	2	5,60	2,798	3,66	0,041
Acido*pH*Temperatura	2	23,44	11,722	15,34	0,000
Error	24	18,34	0,764		
Total	35	2024,76			

Media=15,47% CV=5,6%

Fuente: *Elaboración propia*

El Análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas para los tres factores de estudio: tipo de ácido, pH y temperatura en el rendimiento de pectina. Esto indica que cada factor de estudio y sus niveles respectivos tuvieron una influencia estadísticamente significativa en el rendimiento de pectina del mesocarpio de la granadilla.

5.3.1.1 Prueba de medias Tukey para el tipo de ácido

Se realizó la prueba de medias Tukey al 95 % para la variable “tipo de ácido”, con el fin de identificar qué tratamiento tuvo un efecto significativamente mayor sobre el rendimiento de pectina. Según los resultados presentados en la Tabla 10, se observa que el ácido cítrico muestra un rendimiento mayor del 19,44 %, mientras que el HCl registra un 11,49 %, lo que evidencia una diferencia estadísticamente significativa en el rendimiento entre ambos ácidos.

Tabla 10. Prueba de medias Tukey para el Factor Tipo de Ácido

Tipo de Ácido	N	Media	Grupo
Acido citrico	18	19,4444	A
HCl	18	11,4944	B

Letras distintas son diferentes significativamente

Fuente: *Elaboración propia*

5.3.1.2 Prueba de medias Tukey para el pH

La Prueba de medias de Tukey al 95 % para la variable pH diferencia cuál de sus niveles presentó mayor efecto significativo sobre el rendimiento de pectina. En la Tabla 10 se puede ver que los tres niveles de pH son estadísticamente diferentes en cuanto al rendimiento, siendo el pH de 2,1 el que tuvo mejores resultados.

Tabla 11. Prueba de medias Tukey para el Factor pH

pH	N	Media	Grupo
2,1	12	20,2917	A
2,5	12	15,4083	B
2,9	12	10,7083	C

Letras distintas son diferentes significativamente

Fuente: Elaboración propia

5.3.1.3 Prueba de medias Tukey para la temperatura

Se realizó una prueba de medias de Tukey al 95 % para la variable temperatura con el propósito de identificar qué nivel ejerce un efecto significativamente sobre el rendimiento de pectina. Según los resultados presentados en la Tabla 12, se observa que bajo la temperatura de 77 °C se consigue mayores rendimientos con respecto a la temperatura de 60 °C con diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 12. Prueba de medias Tukey para el Factor Temperatura

Temperatura	N	Media	Grupo
77	18	19,5444	A
60	18	11,3944	B

Letras distintas son diferentes significativamente

Fuente: Elaboración propia

5.3.2 Análisis de varianza del rendimiento de pectina con EDTA

Se realizó un análisis de varianza para el rendimiento de pectina del mesocarpio de la granadilla para las distintas concentraciones de EDTA bajo dos temperaturas de extracción a un nivel de confiabilidad del 95 %.

Tabla 13. Anova del rendimiento para la pectina extraída con EDTA y 77 °C

Fuente de variación	GL	SC	CM	Valor-F	Valor-P
Concentración	2	247,49	123,75	72,93	0,000
Temperatura	1	1550,32	1550,32	913,65	0,000
Concentración*Temp	2	12,61	6,31	3,72	0,055
Error	12	20,36	1,70		
Total	17	1830,78			

Media = 28,28% CV=4,61%

Fuente: *Elaboración propia*

El análisis de varianza muestra diferencias significativas en relación a la variable concentración, indicando que al menos una concentración aplicada tuvo un comportamiento distinto al resto en cuanto al rendimiento de pectina. Del mismo modo, la variable temperatura también presentó diferencias significativas, esto sugiere que las temperaturas aplicadas influyen de manera significativa en el rendimiento de extracción de pectina.

5.3.2.1 Prueba de medias Tukey para las concentraciones de EDTA

Se llevó a cabo una Prueba de medias de Tukey al 95 % para el factor “concentración”, con el propósito de identificar qué tratamiento tuvo un efecto significativo sobre el rendimiento. Según los resultados presentados en la Tabla 14, se observa que las concentraciones del 0,75 y 1,0 % muestran un comportamiento similar, mientras que la concentración del 0,5 % tiene menores rendimientos.

Tabla 14. Prueba de Tukey para el factor concentración de EDTA

Concentración	N	Media	Grupo
1,00	6	31,4950	A
0,75	6	30,2567	A
0,50	6	23,0833	B

Letras distintas son diferentes significativamente

Fuente: *Elaboración propia*

5.3.2.2 Prueba de medias Tukey para la temperatura en EDTA

Se realizó una Prueba de medias de Tukey al 95 % para la variable de temperatura de extracción, para detectar cuál tratamiento fue el que tuvo mayor efecto significativo sobre el rendimiento. En la Tabla 15 se aprecia que las temperaturas aplicadas en la hidrólisis son diferentes significativamente, siendo la temperatura de 77 °C el que mejores resultados presenta.

Tabla 15. Prueba de Tukey para el factor temperatura con EDTA

Temperatura	N	Media	Grupo
77	9	37,5589	A
60	9	18,9978	B

Letras distintas son diferentes significativamente

Fuente: Elaboración propia

5.4 Determinación del peso equivalente (PE), acidez libre (AL), porcentaje de metoxilo y grado de esterificación (GE) de la pectina por valoración ácido-base.

5.4.1 Peso equivalente (PE) con HCl y Á. Cítrico

A continuación se muestran los resultados del peso equivalente de la pectina obtenida por hidrólisis con HCl a los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 y Temperatura de 77 °C.

Tabla 16. Peso equivalente de pectina extraída con HCl a diferentes niveles de pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	PE Prom [mg/meq]
2,1	77	75	0,0951	2117,07±13,68
2,5	77	75	0,0951	2650,72±17,10
2,9	77	75	0,0951	3543,64±19,51

Fuente: Elaboración propia

Los valores promedios de Peso equivalente de las pectinas obtenidas con HCl a 77°C fueron de 2127,23; 2650,72 y 3543,64 mg/meq para los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 respectivamente, tal como se muestra en la Tabla 16. Estos resultados muestran que el Peso equivalente tiende a incrementar a medida que aumenta el pH, es decir que guardan una relación directamente proporcional.

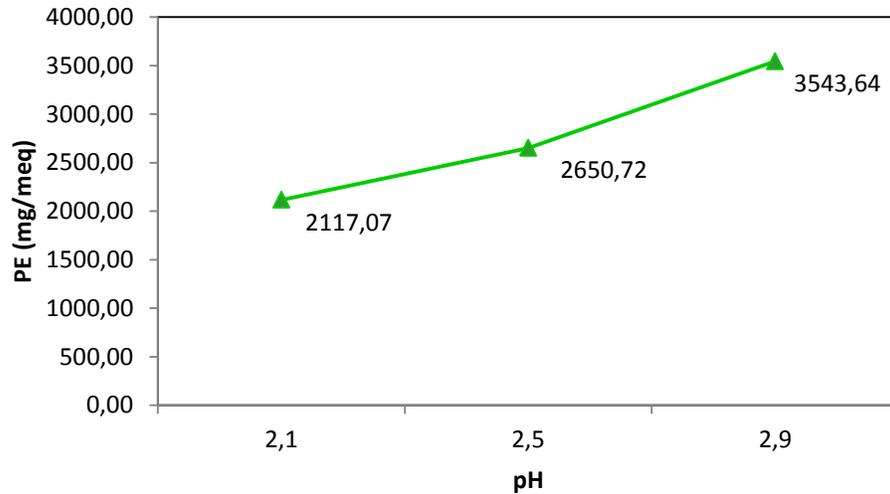


Figura 31. Peso equivalente con HCl a diferentes niveles de pH.

Fuente: Elaboración propia

El Peso Equivalente para el ácido cítrico se presenta en la Tabla 17 a distintos niveles de pH y temperatura de 77 °C.

Tabla 17. *Peso equivalente de pectina extraída con Ácido cítrico a distintos pH*

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	PE Prom [mg/meq]
2,1	77	75	0,0951	186,62±3,77
2,5	77	75	0,0951	450,55±8,18
2,9	77	75	0,0951	1158,87±31,66

Fuente: Elaboración propia

La hidrólisis de las pectinas con ácido cítrico a la temperatura de 77 °C a los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 produjeron pesos equivalentes promedio de 186,62; 450,55 y 1158,87 mg/meq respectivamente, donde existe una relación directa entre peso equivalente y pH. Khamsucharit et al (2017), encontraron resultados de peso equivalente de pectinas de las cáscaras de plátano entre 943 y 1456 mg/meq, tratadas también con ácido cítrico; estos valores se asemejan a la pectina del presente trabajo hidrolizada con ácido cítrico a pH 2,9 donde se obtuvo 1158,87 mg/meq.

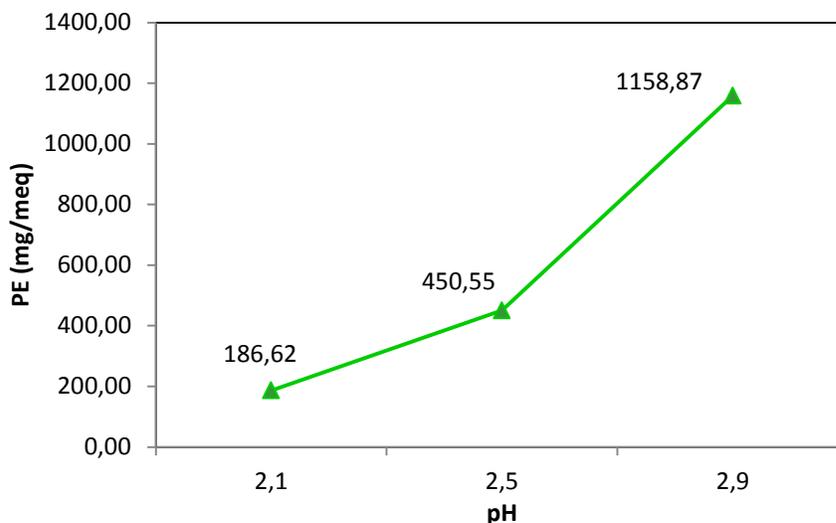


Figura 32. Peso equivalente con ácido cítrico a diferentes pH

Fuente: Elaboración propia

5.4.2 Peso equivalente (PE) con EDTA

Se determinó el Peso Equivalente de las pectinas extraídas con EDTA a distintas concentraciones y temperatura de 77 °C, como se muestra en la Tabla 18:

Tabla 18. *Peso equivalente de pectina extraída con EDTA*

Conc [%]	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	PE Prom [mg/meq]
0,5	77	75	0,0951	1179,90±59,15
0,75	77	75	0,0951	988,54±24,12
1,0	77	75	0,0951	766,97±17,76

Fuente: Elaboración propia

Los pesos equivalentes obtenidos con EDTA a las concentraciones de 0,5; 0,75 y 1,0 % fueron 1179,90; 988,54 y 766,97 mg/meq respectivamente; estos resultados nos muestran que a menor concentración de EDTA se tiene valores altos de peso equivalente, es decir muestran una relación inversamente proporcional.

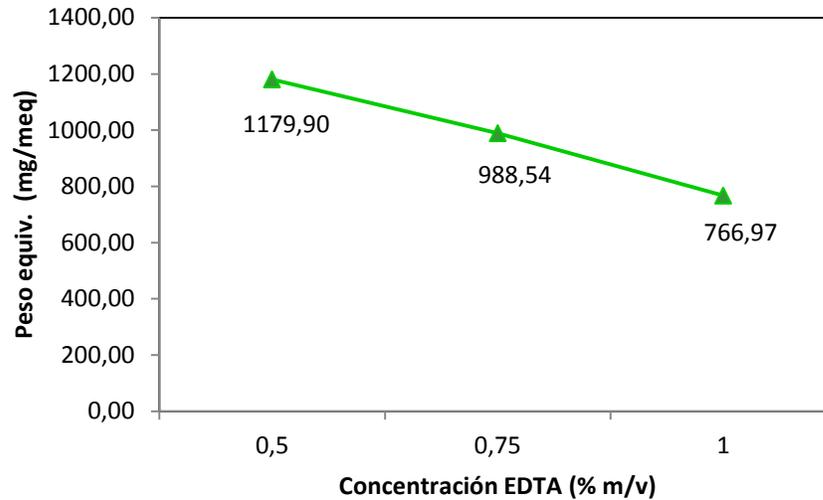


Figura 33. Peso equivalente a diferentes concentraciones de EDTA

Fuente: Elaboración propia

5.4.3 Acidez libre (AL) con HCl y Ácido Cítrico

La acidez libre representa a los grupos carboxilos libres presentes en el componente ácido, en la que relaciona los miliequivalentes de NaOH consumidos en el ensayo del peso equivalente y el peso de la pectina en gramos.

Los resultados de Acidez Libre para las pectinas tratadas con Ácido clorhídrico a diferentes pH y a la temperatura de 77 °C se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Acidez Libre de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	AL Prom [meq/g]
2,1	77	75	0,0951	0,472±0,003
2,5	77	75	0,0951	0,377±0,002
2,9	77	75	0,0951	0,282±0,001

Fuente: Elaboración propia

Se muestra en la Tabla 19 la Acidez libre media hidrolizadas con HCl a los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 donde los resultados fueron 0,472; 0,377 y 0,282 meq/g respectivamente; mostrando que a menor pH la acidez libre incrementa, es decir que presentan una relación inversa; esto puede deberse que a valores de pH menores ocurre

una mayor hidrólisis en el mesocarpio de la granadilla. Rodriguez et al (2023) investigaron la extracción de pectina en cacao hidrolizadas con HCl, y del mismo modo observaron que a menores pH se tiene valores elevados de Acidez libre, donde obtuvieron a pH de 2, 3 y 4 valores de acidez libre de 0,4; 0,3 y 0,2 meq/g respectivamente.

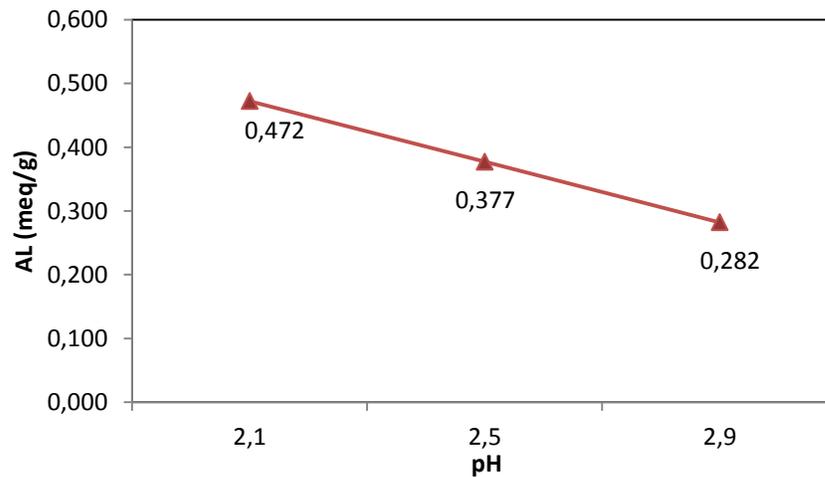


Figura 34. Acidez libre de pectina extraída con HCl a diferentes pH

Fuente: Elaboración propia

La Acidez Libre para el Ácido cítrico a los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 a la temperatura de 77°C se detallan a continuación:

Tabla 20. Acidez Libre de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	AL Prom [meq/g]
2,1	77	75	0,0951	5,36±0,11
2,5	77	75	0,0951	2,22±0,04
2,9	77	75	0,0951	0,86±0,02

Fuente: Elaboración propia

Los valores de Acidez libre media bajo hidrólisis con Ácido cítrico se muestran en la Tabla 20, donde se puede observar que a pH de 2,1; 2,5 y 2,9 la acidez libre determinada fue de 5,36; 2,22 y 0,86 meq/g respectivamente; del mismo modo ocurre que a valores menores de pH la acidez libre se incrementa.

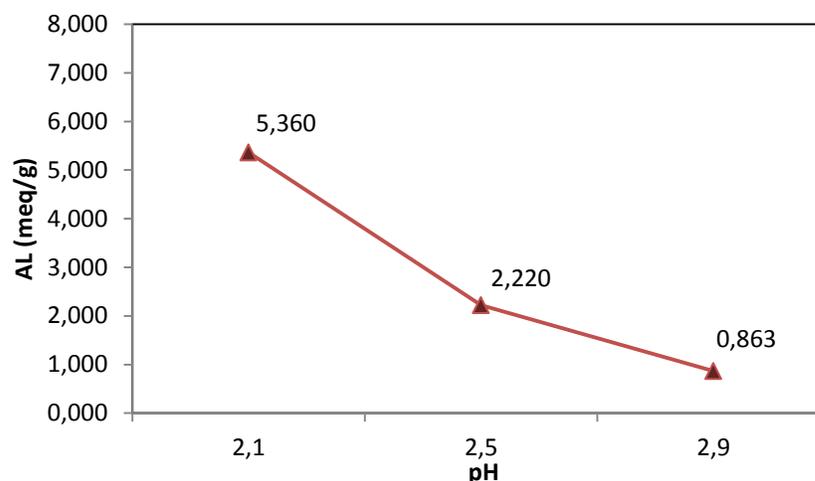


Figura 35. Acidez libre con ácido cítrico a diferentes pH y 77°C

Fuente: Elaboración propia

5.4.4 Acidez libre (AL) con EDTA

La Acidez Libre de las pectinas por hidrólisis con EDTA a diferentes concentraciones y a la temperatura de 77 °C se detalla a continuación:

Tabla 21. Acidez libre de pectina extraída con EDTA

Conc [%]	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	AL Prom [meq/g]
0,5	77	75	0,0951	0,85±0,04
0,75	77	75	0,0951	1,01±0,02
1,0	77	75	0,0951	1,30±0,03

Fuente: Elaboración propia

Los valores de Acidez libre en promedio de la pectina hidrolizada con EDTA a la temperatura de 77 °C, se muestran en la Tabla 21, donde a las concentraciones de 0,5; 0,75 y 1,0 % se obtuvieron valores de 0,85; 1,01 y 1,30 meq/g respectivamente. Se puede apreciar que a mayor concentración de EDTA se tiene también mayores valores de Acidez libre, es decir que son directamente proporcionales. Esto sería debido a que, a menor concentración de EDTA, menor es la hidrólisis del mesocarpio, por consiguiente se tiene menos grupos carboxilos libres.

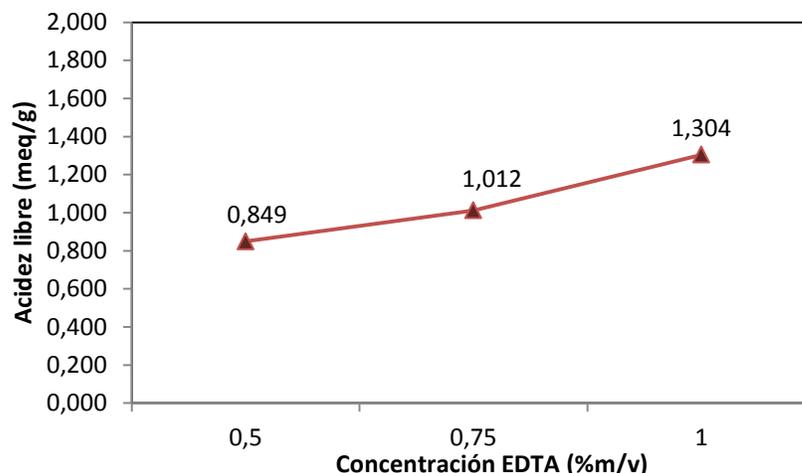


Figura 36. Acidez libre a diferentes concentraciones de EDTA y 77 °C

Fuente: Elaboración propia

5.4.5 Porcentaje de metoxilo (%ME) con HCl y Á. Cítrico

La cantidad de metoxilos unidos al grupo carboxílico del ácido galacturónico de la pectina que forman el éster es el porcentaje de metoxilo; y a mayor porcentaje de metoxilos mayor es la rapidez de gelificación.

Se determinó el porcentaje de metoxilo (%ME) para la pectina extraída con HCl a distintos pH y temperatura de 77 °C; los resultados se presentan en la Tabla 22:

Tabla 22. Metoxilo de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	ME Prom [%]
2,1	77	75	0,0951	7,29±0,13
2,5	77	75	0,0951	7,16±0,10
2,9	77	75	0,0951	6,95±0,23

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de metoxilo determinados para la pectina extraída mediante hidrólisis con HCl a pH de 2,1; 2,5 y 2,9 fueron 7,29%; 7,16% y 6,95%, respectivamente; estos valores indican que son de alto contenido de metoxilos, ya que son mayores a los estándares establecidos por la FAO, que requieren un mínimo del 6,70% de metoxilos. En este caso, la hidrólisis con HCl produjo pectinas de alto contenido de metoxilos, que podría ser debido a que los grupos éster de la pectina no fueron desmetilados en exceso.

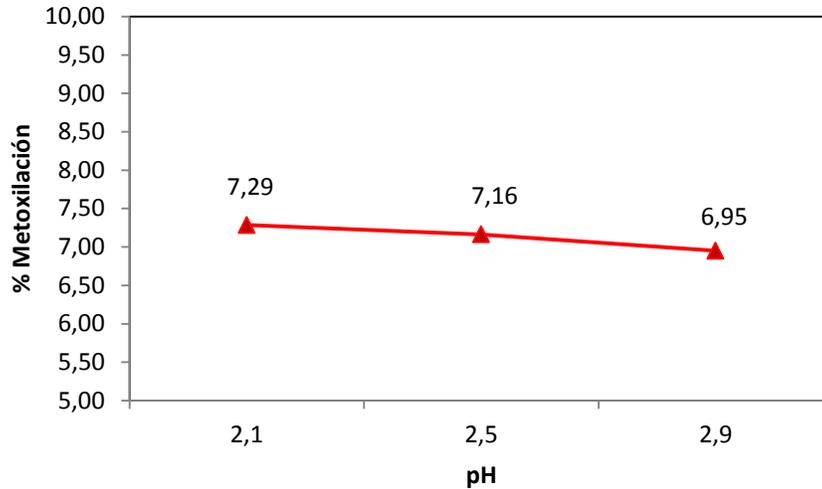


Figura 37. Porcentaje de metoxilo con HCl a diferentes pH y 77°C

Fuente: Elaboración propia

Chasquibol *et al.* (2008) al realizar una extracción con HCl a un pH de 2,5, a la temperatura de 90°C por 75 minutos, obtuvo un contenido de metoxilo de 14,40 %, valor muy superior al mínimo (6,70% según la FAO). En contraste a la presente investigación también se obtuvieron valores superiores al mínimo empleando HCl, sin embargo están alrededor del 7,0 %.

Vásquez *et al.* (2008), observó que, el contenido de metoxilos en la pectina extraída de cáscaras de plátano con HCl a pH 2,0 y 3,0 presentan valores de 1,47 % y 2,22 % respectivamente; si bien estos resultados son bajos en metoxilos, indican que a niveles bajos de pH, el contenido de metoxilo tiende a ser menor. Asimismo, señala que los niveles de pH en una extracción de pectina afectan al contenido de metoxilos.

Se calculó el porcentaje de metoxilo (%ME) para la pectina extraída con Ácido cítrico a pH de 2,1; 2,5 y 2,9 a la temperatura de hidrólisis de 77 °C, donde los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 23.

Tabla 23. Metoxilo de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	ME Prom [%]
2,1	77	75	0,0951	6,09±0,22
2,5	77	75	0,0951	6,64±0,05
2,9	77	75	0,0951	7,30±0,16

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del porcentaje de metoxilo obtenido para la pectina extraída mediante hidrólisis con ácido cítrico muestran que a pH 2,1; 2,5 y 2,9 se obtuvieron valores de 6,09 %; 6,64 % y 7,30 % de metoxilo, respectivamente. De estos valores, las hidrólisis realizadas a pH de 2,5 y 2,9 son las que reportan pectinas de alto metoxilo, ya que superan el mínimo de 6,70 % establecido por la FAO.

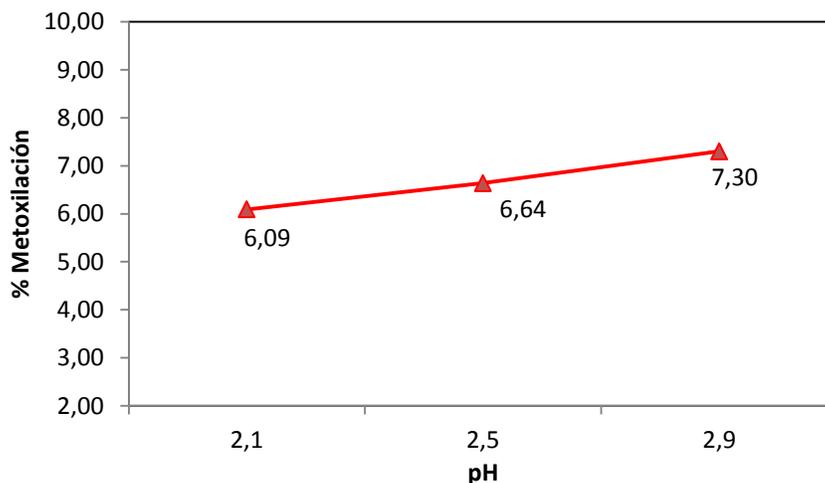


Figura 38. Porcentaje de metoxilo con Ácido Cítrico a diferentes pH y 77 °C

Fuente: Elaboración propia

5.4.6 Porcentaje de metoxilo (%ME) con EDTA

El porcentaje de metoxilo determinado al hidrolizar el mesocarpio de la granadilla con EDTA a concentraciones de 0,5 %; 0,75 % y 1,0 % y temperatura de 77°C se presentan en la Tabla 24.

Tabla 24. Metoxilo de pectina extraída con EDTA a 77°C

Conc [%]	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	ME Prom [%]
0,5	77	75	0,0951	6,09±0,05
0,75	77	75	0,0951	4,51±0,08
1,0	77	75	0,0951	4,38±0,15

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de metoxilación determinados de la pectina del mesocarpio de la granadilla al ser hidrolizados con EDTA a concentraciones de 0,5 %; 0,75 % y 1,0 % fueron 6,09 %; 4,51 % y 4,38 % de metoxilos respectivamente. Estos valores están por debajo del valor mínimo requerido (6,70 %), por consiguiente serían considerados como pectinas de bajo metoxilo.

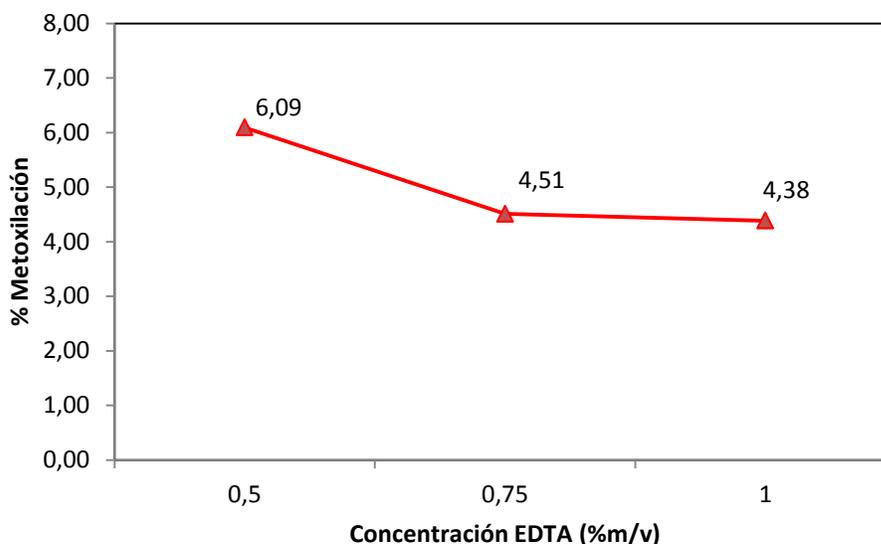


Figura 39. Porcentaje de metoxilo con EDTA a 77 °C

Fuente: Elaboración propia

5.4.7 Grado de esterificación (GE) con HCl y Á. Cítrico

Se determinó el GE de la pectina extraída del mesocarpio de la granadilla bajo hidrólisis con HCl a los pH de 2,1; 2,5 y 2,9 a la temperatura de 77°C, los resultados se muestran a continuación:

Tabla 25. Grado de esterificación de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	GE Prom [%]
2,1	77	75	0,0951	83,24±0,16
2,5	77	75	0,0951	86,04±0,37
2,9	77	75	0,0951	88,82±0,24

Fuente: Elaboración propia

Los valores de grado de esterificación encontrados bajo la hidrólisis de pectina con HCl a una temperatura de 77 °C y pH de 2,1; 2,5 y 2,9 fueron de 83,24 %; 86,04 % y 88,82 %, respectivamente, como se muestra en la Figura 40. Estos resultados indican que todas las muestras presentan un alto grado de esterificación (GE), ya que son mayores al 60 %, que es el mínimo establecido por la FAO. Esto implica que más del 50 % de los grupos carboxilo están esterificados en estas pectinas.

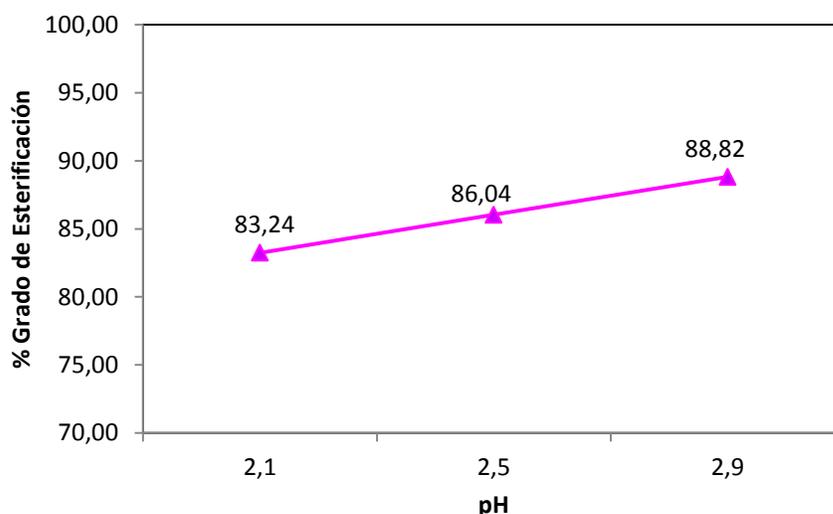


Figura 40. Grado de esterificación con HCl a diferentes pH y 77°C

Fuente: Elaboración propia

Las pectinas extraídas por hidrólisis con Ácido cítrico a pH de 2,1; 2,5 y 2,9 y temperatura de 77 °C, también se determinaron sus Grados de Esterificación, cuyos resultados se presentan en la Tabla 26.

Tabla 26. Grado de esterificación de pectina extraída con ácido cítrico a diferentes pH

pH	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	GE Prom [%]
2,1	77	75	0,0951	26,82±0,76
2,5	77	75	0,0951	49,10±0,30
2,9	77	75	0,0951	73,17±0,98

Fuente: Elaboración propia

Se determinó el grado de esterificación de la pectina mediante hidrólisis con ácido cítrico, como se muestra en la Figura 40. Para valores de pH de 2,1; 2,5 y 2,9, se obtuvieron valores de grado de esterificación del 26,82 %; 49,10 % y 73,17 %, respectivamente. Se observa que la hidrólisis a pH 2,9 fue la única que produjo una pectina con un grado de esterificación superior al 60 %, el cual es el valor mínimo requerido por la FAO.

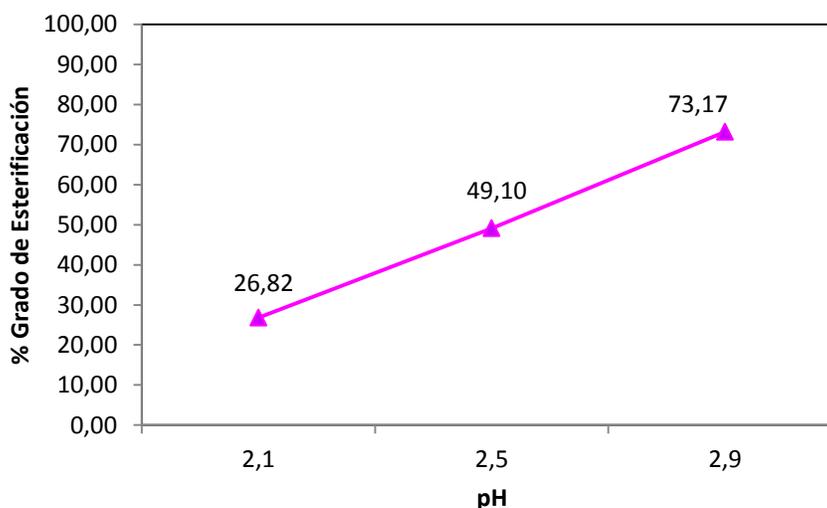


Figura 41. Grado de esterificación con Ácido Cítrico a diferentes pH y 77 °C

Fuente: Elaboración propia

5.4.8 Grado de esterificación (%GE) con EDTA

Se determinó el Grado de esterificación de la pectina obtenida bajo hidrólisis con EDTA a las concentraciones de 0,5%; 0,75% y 1,0% a la temperatura de 77°C, cuyos resultados se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27. Grado de esterificación de pectina extraída con EDTA a 0,5; 0,75 y 1,0%

Conc [%]	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Valorante NaOH [eq/L]	GE Prom [%]
0,5	77	75	0,0951	69,85±0,93
0,75	77	75	0,0951	58,98±0,58
1,0	77	75	0,0951	52,02±0,46

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 42 se presentan los valores de grado de esterificación (GE) de la pectina obtenida mediante hidrólisis con EDTA. Se observa que a concentraciones de

0,5 %; 0,75 % y 1,0 %, se obtuvieron grados de esterificación del 69,85 %, 58,98 % y 52,02 %, respectivamente. Sin embargo, solo el tratamiento con 0,5 % de EDTA alcanza un valor de 69,85 % considerado como de alto grado de esterificación, que según los criterios de la FAO establece que debe ser superior al 60 %.

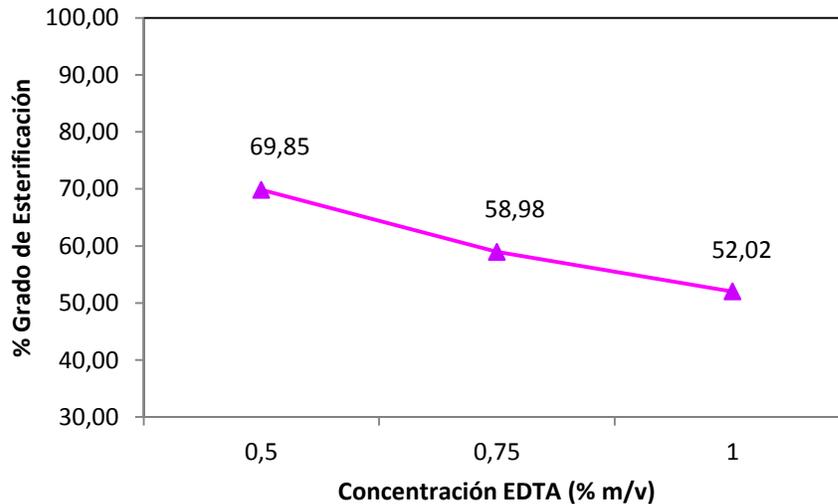


Figura 42. Grado de esterificación con EDTA a 77 °C

Fuente: Elaboración propia

5.5 Comparación de parámetros de la pectina

Entre todas las extracciones de pectina evaluadas, se eligieron aquellos tratamientos que cumplen con los requerimientos establecidos por la FAO en cuanto a los parámetros de calidad, entre los más importantes: el porcentaje de metoxilo y el grado de esterificación.

Según los resultados presentados en la Tabla 28, se observa que las extracciones de pectina que cumplen con los requerimientos de la FAO y presentan mejores resultados en porcentaje de metoxilo y grado de esterificación, los cuales son: HCl a pH 2,1; ácido cítrico a pH 2,9; y EDTA al 0,5 %, todas llevadas a cabo a una temperatura de 77 °C. Estas condiciones específicas de extracción han demostrado ser efectivas para obtener pectina con los parámetros de calidad deseables.

Tabla 28. Comparación de parámetros de calidad de la pectina

Parámetro	FAO	Pectina		
		HCl pH 2,1 77°C	Ácido cítrico pH 2,9 77°C	EDTA 0,5% 77°C
Metoxilo	Mínimo 6,70%	7,29%	7,30%	6,09% *
Grado esterificación	Mínimo 60%	83,24%	73,17%	69,85%
Rendimiento en la investigación	-----	15,78%	15,72%	31,40%

* Es el único que no cumple ese parámetro.

Fuente: Elaboración propia

5.6 Caracterización de la pectina por Espectroscopia Infrarrojo FT

Una técnica para caracterizar pectinas es empleando la Espectroscopia Infrarrojo con Transformada de Fourier, que localiza las bandas de absorción de las vibraciones características de los grupos funcionales que las constituyen. En ese sentido, se comparó los espectros infrarrojos de las pectinas obtenidas de la investigación con un espectro IR de una pectina estándar, a fin de identificar a los grupos funcionales característicos.

Chasquibol, N (2010), obtuvo un espectro de pectina estándar de limón, Figura 43, en el que se observa una banda amplia y asimétrica del grupo OH con un máximo en 3403.65 cm^{-1} . Las bandas características de las vibraciones del grupo carbonilo C=O de los grupos éster (COO-R) y ácidos carboxílicos (COOH) se observaron a $1740,82 \text{ cm}^{-1}$, y para el grupo (COO⁻) a 1626 cm^{-1} . Por último, otra banda característica es la correspondiente a los enlaces C-O-C que se encontraron en $1020,6 \text{ cm}^{-1}$

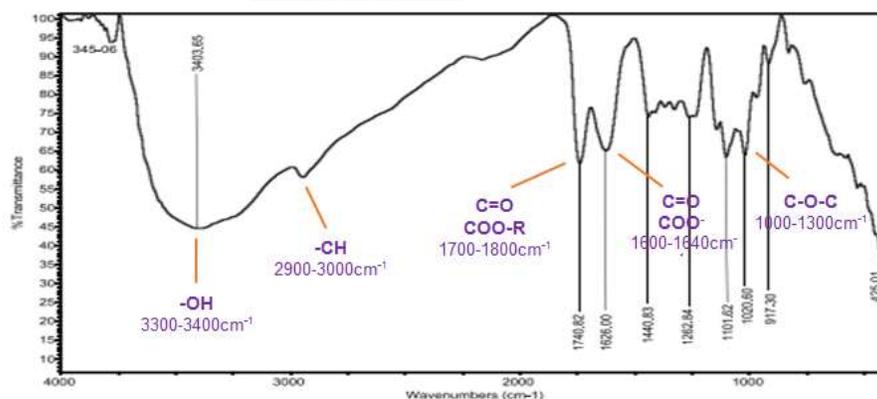


Figura 43. Espectro FT-IR de la pectina estándar de limón

Fuente: Chasquibol, N (2010).

5.6.1 Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido clorhídrico

En la Figura 44 se observa el espectro IR de la pectina obtenida por hidrólisis con HCl a un pH de 2,1 y 77 °C, donde presenta una banda con un valor de 3332,6 cm⁻¹, que es una banda ancha debido a las vibraciones de tensión del grupo O-H, el cual está en el rango de número de onda entre los 3300 a 3400 cm⁻¹. Se encuentra también otra banda correspondiente a las vibraciones del grupo C-H (2900 a 3000 cm⁻¹) con un valor de 2920,85 cm⁻¹.

La tercera banda está en 1738,83 cm⁻¹ que corresponde a la tensión del grupo carbonilo C=O del grupo éster COOCH₃ y ácidos carboxílicos COOH. Cerca de esta banda se encuentra el otro grupo carbonilo correspondiente al grupo COO⁻ de valor obtenido en número de onda de 1602,83 cm⁻¹, el cual comprende al rango propio de este grupo, entre 1600 a 1640 cm⁻¹.

Otra banda característica está a un número de onda de 1000 a 1300 cm⁻¹ se encuentran las vibraciones correspondientes a los enlaces C-O-C, para la pectina obtenida se tiene en 1012,9 cm⁻¹, los cuales son característicos por la presencia de los grupos metoxilo, así como del grado de esterificación.

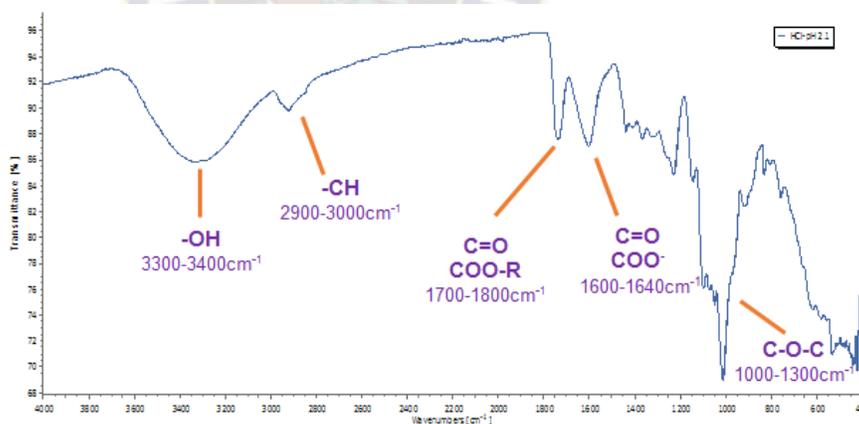


Figura 44. Espectro FT-IR de la pectina extraída con HCl a pH 2, 1

Fuente: Elaboración propia

5.6.2 Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido cítrico

El espectro IR de la pectina obtenida del mesocarpio de la granadilla bajo hidrólisis con Ácido cítrico a pH de 2,9 y 77 °C que se presenta en la Figura 45, muestra una banda ancha debido a las vibraciones del grupo O-H en 3338.7 cm⁻¹, cerca de ésta se encuentra la banda de C-H, con un valor de 2933.2 cm⁻¹. La banda de tensión del grupo

carbonilo C=O del grupo éster COOCH₃ y ácidos carboxílicos COOH está en 1733,48 cm⁻¹, cerca se encuentra el otro carbonilo grupo COO⁻ en 1592,78 cm⁻¹; y por último está la presencia de la banda de los enlaces C-O-C en 1010,5 cm⁻¹.

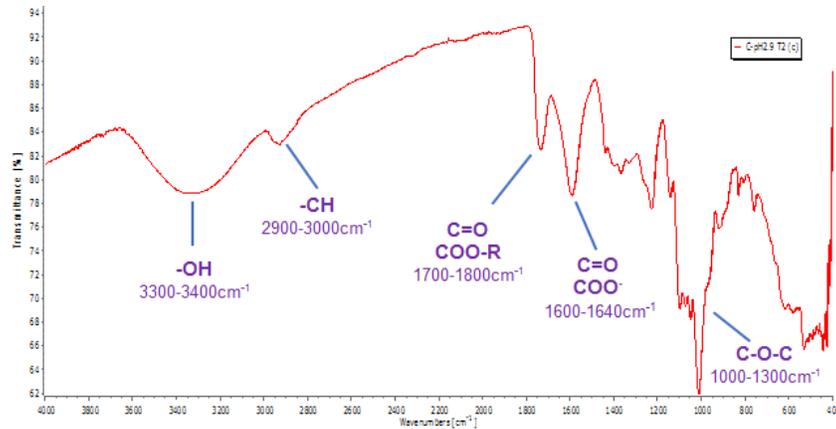


Figura 45. Espectro FT-IR de pectina extraída con Ácido cítrico a pH 2,9

Fuente: Elaboración propia

5.6.3 Espectro FT-IR de pectina extraída con EDTA

En la Figura 46 se tiene el espectro IR de la pectina obtenida por hidrólisis con EDTA al 0,5 % y 77 °C, donde presenta una banda ancha debido a las vibraciones del grupo O-H en 3277,7 cm⁻¹; se encuentra también la banda correspondiente a las vibraciones del grupo C-H con un valor de 2921 cm⁻¹. Se observa la banda de tensión del grupo carbonilo C=O del grupo éster COOCH₃ y ácidos carboxílicos COOH en 1738,93 cm⁻¹; cerca está la banda del otro carbonilo (COO⁻) en 1595,87 cm⁻¹; y finalmente está la presencia de la banda de los enlaces C-O-C en 1012,9 cm⁻¹.

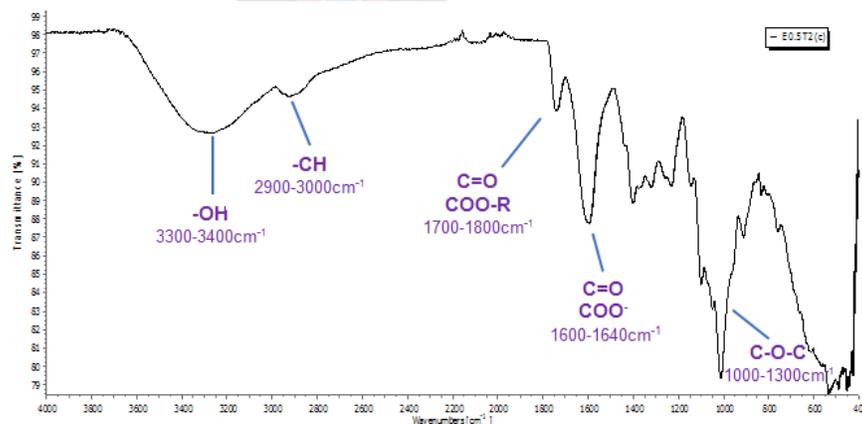


Figura 46. Espectro FT-IR de pectina extraída con EDTA al 0,5%

Fuente: Elaboración propia

Los espectros de Infrarrojo obtenidos de la pectina extraída de la granadilla bajo los diferentes tratamientos fueron comparados con un espectro Infrarrojo de una pectina estándar de limón, Tabla 29, donde se observa que coinciden las bandas de los grupos funcionales característicos de una pectina estándar, confirmándose que las pectinas extraídas del mesocarpio de la granadilla son realmente pectina.

Tabla 29. Asignaciones obtenidas de bandas de espectros FT-IR de pectinas

Grupo funcional presente	Número de onda [cm ⁻¹]			
	Pectina			
	Comercial estándar de limón *	HCl pH 2,1 77°C	Ácido cítrico pH 2,9 77°C	EDTA 0,5% 77°C
OH	3403,65	3332,6	3338,7	3277,7
Alquilo C-H	n.r.	2920,85	2933,2	2921,0
-COOCH₃	1740,82	1738,83	1733,48	1738,93
-COO⁻	1626,0	1602,83	1592,78	1595,87
-C-O-C	1020,6	1012,9	1010,5	1012,9

*Chasquibol, N (2010)

n.r.: no reportó la banda, pero sí existe en su espectro

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO 6

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos del trabajo desarrollado, se establecen las siguientes conclusiones:

- En la primera etapa del trabajo, se efectuó la hidrólisis del mesocarpio de la granadilla bajo tres factores: tipo de ácido, niveles de pH y temperatura; el ácido que mayor rendimiento de extracción de pectina presentó es el Ácido cítrico a pH 2,1 y temperatura de 77 °C, alcanzado un valor de 34,00 %. En contraste, el HCl obtuvo menores rendimientos, siendo su mayor rendimiento de 15,78 % a pH 2,1 y 77 °C.
- En la segunda etapa del trabajo, en la hidrólisis ácida del mesocarpio de la granadilla con EDTA bajo dos factores: concentración y temperatura; el mayor rendimiento de extracción de pectina fue a la temperatura de 77 °C; con respecto a las concentraciones aplicadas, se evidenció que aplicando 0,75 % y 1,0 % se consiguen mismos rendimientos, alcanzado un 40,6 y 40,3 % respectivamente.
- El Análisis de varianza para la primera etapa de la investigación evidencia que los tres factores considerados: tipo de ácido, pH y temperatura, tienen un efecto significativo en la variable rendimiento de pectina. Asimismo, la prueba de medias Tukey al 95 %, muestra que: el Ácido cítrico, a pH 2,1 y temperatura de 77 °C son los que presentan un efecto estadísticamente significativo en la variable rendimiento de pectina del mesocarpio de la granadilla.
- Por otro lado, en la Segunda etapa de la investigación (con EDTA), el análisis de varianza evidencia que los factores estudiados: concentración y temperatura, presentan un efecto significativo sobre el rendimiento de la pectina extraída del mesocarpio. La Prueba de medias Tuckey al 95 % indica que las concentraciones de 1,0 y 0,75 % de EDTA y temperatura de 77 °C son los que muestran un efecto

significativo en el rendimiento de pectina, sin embargo entre éstas no existe diferencia estadística.

- El porcentaje de metoxilo de la pectina del mesocarpio para la hidrólisis con HCl dio como resultado que las extracciones a los distintos pH y temperatura de 77°C son todas de alto metoxilo; para el Ácido cítrico presentó pectina de alto metoxilo solo el tratamiento a pH 2,9; mientras que en el EDTA todas las concentraciones aplicadas dieron pectinas de bajo metoxilo.
- El Grado de Esterificación para la hidrólisis con HCl proporcionó resultados mayores a 83,8% a los tres niveles de pH estudiados, lo que indica que son de alto grado de esterificación. Empleando Ácido cítrico el único tratamiento que reporto un alto grado de esterificación fue a pH 2,9 el cual produjo un 73,17 %. Del mismo modo, para la extracción con EDTA, la única concentración que reporto un alto grado de esterificación fue la de 0,5 % de EDTA el cual produjo un 69,85 %.
- El análisis de los espectros infrarrojo de las pectinas extraídas del mesocarpio de la granadilla confirman la presencia de los grupos funcionales característicos de una pectina estándar comercial, puesto que presentan las mismas bandas de absorción.
- Finalmente, el presente trabajo de investigación desarrollado muestra que la pectina extraída del mesocarpio de la granadilla (*Passiflora ligularis J.*) es un sub producto con características similares a las pectinas comerciales, y una alternativa como fuente de pectinas al realizar una extracción por hidrólisis ya sea aplicando Ácido clorhídrico, Ácido cítrico o EDTA.

6.2 Recomendaciones

A Partir de todo el trabajo realizado se plantea las siguientes recomendaciones:

- Determinar las propiedades fisicoquímicas y de composición de todos los residuos orgánicos de la granadilla, que permitirán conocer más sobre las propiedades de este fruto y obtener más productos con valor agregado.
- En el proceso de hidrólisis ácida controlar de manera rigurosa la temperatura y el pH, esto para evitar el cambio en las condiciones de extracción de la pectina, ya que puede afectar en el rendimiento.
- Continuar evaluando la extracción de pectinas con el EDTA a diferentes condiciones experimentales, debido a sus rendimientos, y mejorar la calidad de su pectina.
- Continuar con más estudios de extracción de la pectina de la granadilla, empleando otros agentes hidrolizantes, para optimizar y mejorar las condiciones experimentales, y así obtener productos más competitivos.
- Emplear métodos instrumentales en la evaluación de parámetros de calidad de pectinas y compararlos con las tradicionales.

7 BIBLIOGRAFIA

Arias J. (2014) Estudios de polinización y caracterización agromorfológica en *Passiflora ligularis* Juss. (Granadilla) como base para su mejoramiento genético. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Posgrados Palmira, Colombia.

Bailey, P. (1995) Química orgánica. Conceptos y aplicaciones. Prentice Hallm, Pearson Educación, Edición: 5a edición. México

Belitz, H. Grosch, W. y Schieberle, P. (2009). “Food Chemistry. 4th Edition, Springer-Verlag”, Berlin, Pp.1070.

Badui, S (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson Educación S.A. Pp 736. México.

Belkheiri, A.; Forouhar, A.; Ursu, A.V.; Dubessay, P.; Pierre, G.; Delattre, C.; Djelveh, G.; Abdelkafi, S.; Hamdami, N.; Michaud, P. Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By-Products. Appl. Sci. 2021, 11, 6596. <https://doi.org/10.3390/app11146596>

Benitez et al. (2010). Análisis De La Variancia En Experimentos Factoriales. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina.

Boatella, J; Codony, R; López, P (2004) Química y bioquímica de los alimentos II. Ediciones de la Universitat de Barcelona. España.

Cabarcas E., G. A. (2012). Extracción y Caracterización de Pectina a partir de cascaras de platano para para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Cartagena, Colombia.

Cerdas A., M.M. & Castro R., J.J. 2003. Manual práctico para la producción, cosecha y manejo poscosecha del cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss). Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica. 68 p.

Charapaxi. Recuperado de: <https://mapcarta.com/es/37380238>. Consultado el: 10-05-24
Valdez-Martinez S.E. 2006. Hidratos de Carbono en Química de alimentos. S. Badui. Ed. Pearson Addison Wesley. México D.F.

Chasquibol Silva, N; Arroyo Benites, E; Morales Gomero, JC (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. Ingeniería Industrial, núm. 26, pp. 175-199. Universidad de Lima. Perú.

Chasquibol, N (2010). Aplicación de la espectroscopía ft-ir en la identificación de polisacáridos obtenidos de los frutos del “níspero de la sierra” y de la “granadilla”. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Vol. 13 N° 2, 2010. Págs. 12-21.

Choolner (2020) Extracción de pectina de pomelo mediante hidrólisis ácida. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ingeniería. La Paz, Bolivia.

Corona, M.; Díaz, A. (1994). Extracción y caracterización de pectina de la corteza de parchita. Trabajo de Tesis. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Cuesta, M. y Muñoz, R. (2012). Extracción de pectina a partir de la corteza de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* degener). Revista Politécnica, vol. 31, enero-diciembre, pp. 91-96. Escuela Politécnica Nacional. Ecuador.

Devia, J 2003. Proceso para producir Pectinas Cítricas. Universidad EAFIT. REVISTA Universidad EAFIT No. 129.

FAO JECFA, (2009) Compendium of Food Additive Specifications (71st JECFA), 7. FAO JECFA Monographs. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i0971e.pdf>.

Fernández (2023) Extracción de pectina del albedo de toronja (*Citrus paradissi*) por hidrólisis ácida, en un proceso a escala de laboratorio. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Puras y Naturales. La Paz, Bolivia.

Fernández (2020), Diseño de experimentos: Diseño factorial. Universidad Politécnica de Cataluña. España.

García Muñoz, MC (2008). Manual de manejo cosecha y poscosecha de granadilla. Corpoica, 100 p. Bogotá. Colombia.

Gilabert, J. (1996) Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. Universitat de Lleida. Departament de Tecnologia de Aliments. 568p. España.

Gironés-Vilaplana, A.; Baenas, N; Villaño, D & Moreno, D (2014) Iberian-American Fruits Rich in Bioactive Phytochemicals for Nutrition and Health. First Edition. CYTED. Murcia, España.

Gutiérrez P., H. & De la Vara S., R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. Segunda edición. Mc Graw Hill. México D.F.

Jeilu, O (2017). Pectinase: Substrate, Production and their Biotechnological Applications. Ambo University, Department of Biology, Ambo. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB) Vol-2, Issue-3, May-Jun- 2017. <http://dx.doi.org/10.22161/ijeab/2.3.1>

Jones, L (1978). Mineral components of plants cell walls. The American Journal of clinical nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 31: S94-S98. Recuperado de: <https://academic.oup.com/ajcn/article-abstract/31/10/S94/4656129>

Laitinen, H y Harris, W (1982). Análisis químico. Texto avanzado y de referencia. Editorial Reverté. 2da Edición. Barcelona, España.

López et al. (2006). La fruta de la pasión, potencial contribución de la naturaleza a la seguridad alimentaria. Fundación Universitaria del Área Andina Pereira. Investigaciones Andina, vol. 8, núm. 12., Colombia.

López Gamarra, M. S. (2013). Extracción de Pectina de cocona "Solanum sessiliflorum dunal" por acidulantes y su caracterización Fisicoquímica. Tesis. Tarma, Peru: Universidad Nacional del centro del Peru.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC. (1997). Frutas frescas: Granadilla NTC4001, Santa Fé de Bogotá. 14pp.

Melgarejo, LM (2015). Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss): caracterización ecofisiológica del cultivo. Universidad Nacional de Colombia, Corporación Centro de Desarrollo Tecnológico de las Pasifloras de Colombia CEPASS. Bogotá, Colombia.

Kamnev, A., Colina, M., Rodríguez, J., Ptitchkina, N., Ignatov, V. (1997). Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. *Food Hydrocolloids* 12(2): 263-271.

Khamsucharit, P; Laohaphatanalert, K; Gavinlertvatana, P; Sriroth, K y Sangseethong, K (2017). Caracterización de pectina extraída de cáscaras de plátano de diferentes variedades. *Sociedad Coreana de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Springer Science+Business Media BV*. doi: [10.1007/s10068-017-0302-0](https://doi.org/10.1007/s10068-017-0302-0)

Kumar, A; Kishor, K; Shalu, C; Sharma, C, y Chand, D (2023) Diversity and Industrial Applications of Fungal Pectinases. Article in *Kavaka* · July 2023
DOI: [10.36460/Kavaka/59/2/2023/01-25](https://doi.org/10.36460/Kavaka/59/2/2023/01-25)

Melo, O.; López, L. & Melo, S. (2020). Diseño de Experimentos. Métodos y Aplicaciones. Segunda Edición. Facultad de ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Mendoza, LP y Sarmiento, CA (2016) Evaluación de la pectina extraída por método enzimático utilizando la cáscara de la mazorca de cacao. Universidad de los Llanos Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales programa de Ingeniería Agroindustrial. Bogotá, Colombia.

Molina, M. (2017) Qué significa realmente el valor p. Servicio de Gastroenterología y Nutrición. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid.. Rev Pediatr Aten Primaria vol.19 no.76 Madrid, España.

Narasimman, 2016 An overview on the fundamentals of pectin. International journal of advanced research IJAR. Article DOI: 10.21474/IJAR/2593

Planta de la granadilla. Recuperado de:

https://ar.pinterest.com/pin/839147343058985717/?amp_client_id=CLIENT_ID%28%29&mweb_unauth_id=%7B%7Bdefault.session%7D%7D

Ponce et al. (2023). Espectroscopía de Infrarrojo. Análisis e interpretación de compuestos. Primera edición. Universidad de Juarez del Estado de Durango. México.

Rodríguez Mora, D. A. Ramírez Garcés, A. F., y Altamar, A. del C. (2023). Extracción de pectina a partir de la hidrólisis ácida del cacao (*Theobroma Cacao* L.) y su aplicación en la obtención de biopelículas. *Mutis*, 13(1). 1-20. <https://doi.org/10.21789/22561498.1885>

Valpuesta, V.; Quesada, M.; Reid, M. (1996). Senescencia y abscisión. En: Azcon-Bieto, J. y M. Talon (eds.). Fisiología y bioquímica vegetal. Bogotá: Interamericana McGraw-Hill. pp. 479-492.

Valenciaga y Chongo (2004) La pared celular. Influencia de su naturaleza en la degradación microbiana ruminal de los forrajes. Instituto de Ciencia Animal.) Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 38, No. 4, 2004. La Habana, Cuba. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017793001>

Vargas, G (2011). Botánica General. Editorial Universidad Estatal a distancia, EUNED. 496 p. San José, Costa Rica.

Vasquez R; Ruesga L; D'addosio R; Páez G y Marín M. (2008) Extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano (Musa AAB, subgrupo plátano) clon Hartón. Universidad del Zulia.

Walpole, R. (1999). Probabilidad y Estadística para Ingenieros. Editorial Pearson Educación. Sexta Edición. Pp 752. México.

Zheng,L; Yinxiao, X; Qian, L; Benwei, Z. 2021. Pectinolytic lyases: a comprehensive review of sources, category, property, structure, and catalytic mechanism of pectate lyases and pectin lyases. Journal- Bioresources and Bioprocessing, Vol – 8. DO - 10.1186/s40643-021-00432-z

8 ANEXOS

ANEXO 1. Determinaciones analíticas



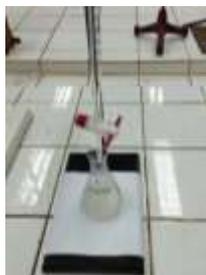
Estandarización de NaOH con Biftalato



Estandarización de HCl con Na₂CO₃



Determinación de Peso equivalente y acidez libre



Determinación de Metoxilos y grado de esterificación

ANEXO 2. Valores de las determinaciones analíticas.

Peso equivalente de pectina extraída con HCl a diferentes niveles de pH

pH	Rep	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	PE [mg/meq]	PE Prom [mg/meq]
2.1	1	0,1013	0,5	0,0951	2130,39	2117,07
	2	0,1	0,5	0,0951	2103,05	
	3	0,1007	0,5	0,0951	2117,77	
2.5	1	0,1002	0,4	0,0951	2634,07	2650,72
	2	0,1015	0,4	0,0951	2668,24	
	3	0,1008	0,4	0,0951	2649,84	
2.9	1	0,1012	0,3	0,0951	3547,14	3543,64
	2	0,1016	0,3	0,0951	3561,16	
	3	0,1005	0,3	0,0951	3522,61	

Peso equivalente de pectina extraída con Á. Cítrico a distintos pH

pH	Rep	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	PE [mg/meq]	PE Prom [mg/meq]
2.1	1	0,1009	5,7	0,0951	186,14	186,62
	2	0,101	5,8	0,0951	183,11	
	3	0,1006	5,55	0,0951	190,60	
2.5	1	0,1003	2,35	0,0951	448,80	450,55
	2	0,1012	2,4	0,0951	443,39	
	3	0,1005	2,3	0,0951	459,47	
2.9	1	0,1014	0,95	0,0951	1122,36	1158,87
	2	0,1009	0,9	0,0951	1178,88	
	3	0,1006	0,9	0,0951	1175,37	

Peso equivalente de pectina extraída con EDTA

Conc [%]	Rep	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	PE [mg/meq]	PE Prom [mg/meq]
0,5	1	0,1013	0,95	0,0951	1121,26	1179,90
	2	0,1002	0,85	0,0951	1239,56	
	3	0,1009	0,9	0,0951	1178,88	
0,75	1	0,1005	1,1	0,0951	960,71	988,54
	2	0,1	1,05	0,0951	1001,45	
	3	0,1002	1,05	0,0951	1003,46	
1,0	1	0,1008	1,4	0,0951	757,10	766,97
	2	0,1011	1,35	0,0951	787,48	
	3	0,1007	1,4	0,0951	756,35	

Acidez Libre de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Rep	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	AL [meq/g]	AL Prom [meq/g]
2.1	1	0,1013	0,5	0,0951	0,469	0,472
	2	0,1	0,5	0,0951	0,476	
	3	0,1007	0,5	0,0951	0,472	
2.5	1	0,1002	0,4	0,0951	0,380	0,377
	2	0,1015	0,4	0,0951	0,375	
	3	0,1008	0,4	0,0951	0,377	
2.9	1	0,1012	0,3	0,0951	0,282	0,282
	2	0,1016	0,3	0,0951	0,281	
	3	0,1005	0,3	0,0951	0,284	

Acidez Libre de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH

pH	Nro	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	AL [meq/g]	AL Prom [meq/g]
2.1	1	0,1009	5,7	0,0951	5,372	5,360
	2	0,101	5,8	0,0951	5,461	
	3	0,1006	5,55	0,0951	5,247	
2.5	1	0,1003	2,35	0,0951	2,228	2,220
	2	0,1012	2,4	0,0951	2,255	
	3	0,1005	2,3	0,0951	2,176	
2.9	1	0,1014	0,95	0,0951	0,891	0,863
	2	0,1009	0,9	0,0951	0,848	
	3	0,1006	0,9	0,0951	0,851	

Acidez libre de pectina extraída con EDTA

Conc [%]	Nro	Pectina [g]	V NaOH A [ml]	N NaOH [eq/L]	AL [meq/g]	AL Prom [meq/g]
0,5	1	0,1013	0,95	0,0951	0,892	0,849
	2	0,1002	0,85	0,0951	0,807	
	3	0,1009	0,9	0,0951	0,848	
0,75	1	0,1005	1,1	0,0951	1,041	1,012
	2	0,1	1,05	0,0951	0,999	
	3	0,1002	1,05	0,0951	0,997	
1,0	1	0,1008	1,4	0,0951	1,321	1,304
	2	0,1011	1,35	0,0951	1,270	
	3	0,1007	1,4	0,0951	1,322	

Metoxilo de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Nro	Pectina [g]	Pectina [mg]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	ME [%]	ME Prom [%]
2.1	1	0,1013	101,3	2,45	0,0951	7,13	7,29
	2	0,1	100	2,5	0,0951	7,37	
	3	0,1007	100,2	2,5	0,0951	7,36	
2.5	1	0,1002	100,2	2,4	0,0951	7,06	7,16
	2	0,1015	101,5	2,5	0,0951	7,26	
	3	0,1008	100,8	2,45	0,0951	7,17	
2.9	1	0,1012	101,2	2,45	0,0951	7,14	6,95
	2	0,1016	101,6	2,35	0,0951	6,82	
	3	0,1005	100,5	2,35	0,0951	6,89	

Metoxilo de pectina extraída con Ácido cítrico a diferentes pH

pH	Nro	Pectina [g]	Pectina [mg]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	ME [%]	ME Prom [%]
2,1	1	0,1009	100,9	2	0,0951	5,84	6,09
	2	0,101	101	2,15	0,0951	6,28	
	3	0,1006	100,6	2,1	0,0951	6,15	
2,5	1	0,1003	100,3	2,25	0,0951	6,61	6,64
	2	0,1012	101,2	2,3	0,0951	6,70	
	3	0,1005	100,5	2,25	0,0951	6,60	
2,9	1	0,1014	101,4	2,45	0,0951	7,12	7,30
	2	0,1009	100,9	2,55	0,0951	7,45	
	3	0,1006	100,6	2,5	0,0951	7,33	

Metoxilo de pectina extraída con EDTA a 77°C

Conc [%]	Rep	Pectina [g]	Pectina [mg]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	ME [%]	ME Prom [%]
0,5	1	0,1013	101,3	2,1	0,0951	6,11	6,09
	2	0,1002	100,2	2,05	0,0951	6,03	
	3	0,1009	101	2,1	0,0951	6,13	
0,75	1	0,1005	100,5	1,55	0,0951	4,55	4,51
	2	0,1000	100	1,55	0,0951	4,57	
	3	0,1002	100,2	1,5	0,0951	4,41	
1,0	1	0,1008	100,8	1,55	0,0951	4,53	4,38
	2	0,1011	101,1	1,45	0,0951	4,23	
	3	0,1007	100,7	1,5	0,0951	4,39	

Grado de esterificación de pectina extraída con HCl a diferentes pH

pH	Rep	V NaOH A [ml]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	meqA + meqB	GE [%]	GE Prom [%]
2.1	1	0,5	2,45	0,0951	0,2805	83,05	83,24
	2	0,5	2,5	0,0951	0,2853	83,33	
	3	0,5	2,5	0,0951	0,2853	83,33	
2.5	1	0,4	2,4	0,0951	0,2663	85,71	86,04
	2	0,4	2,55	0,0951	0,2805	86,44	
	3	0,4	2,45	0,0951	0,2710	85,96	
2.9	1	0,3	2,45	0,0951	0,2615	89,09	88,82
	2	0,3	2,35	0,0951	0,2520	88,68	
	3	0,3	2,35	0,0951	0,2520	88,68	

Grado de esterificación de pectina extraída con ácido cítrico a diferentes pH

pH	Nro	V NaOH A [ml]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	meqA + meqB	GE [%]	GE Prom [%]
2.1	1	5,7	2	0,0951	0,7323	25,97	26,82
	2	5,8	2,15	0,0951	0,7560	27,04	
	3	5,55	2,1	0,0951	0,7275	27,45	
2.5	1	2,35	2,25	0,0951	0,4375	48,91	49,10
	2	2,4	2,3	0,0951	0,4470	48,94	
	3	2,3	2,25	0,0951	0,4327	49,45	
2.9	1	0,95	2,45	0,0951	0,3233	72,06	73,17
	2	0,9	2,55	0,0951	0,3281	73,91	
	3	0,9	2,5	0,0951	0,3233	73,53	

Grado de esterificación de pectina extraída con EDTA a 0,5; 0,75 y 1,0%

Conc [%]	Rep	V NaOH A [ml]	V NaOH B [ml]	N NaOH [eq/L]	meqA + meqB	%GE	GE Prom [%]
0,5	1	0,95	2,1	0,0951	0,2901	68,85	69,85
	2	0,85	2,05	0,0951	0,2758	70,69	
	3	0,9	2,1	0,0951	0,2853	70,00	
0,75	1	1,1	1,55	0,0951	0,2520	58,49	58,98
	2	1,05	1,55	0,0951	0,2473	59,62	
	3	1,05	1,5	0,0951	0,2425	58,82	
1,0	1	1,4	1,55	0,0951	0,2805	52,54	52,02
	2	1,35	1,45	0,0951	0,2663	51,79	
	3	1,4	1,5	0,0951	0,2758	51,72	