

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

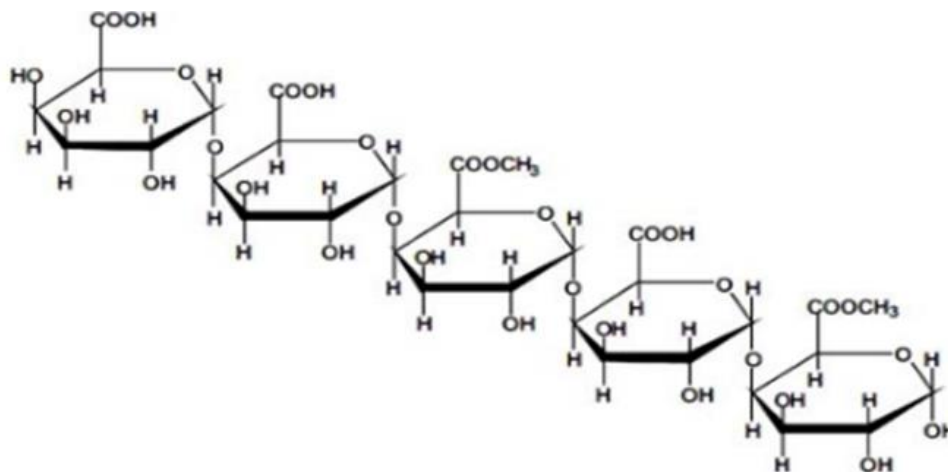
1.1. Pectina

La pectina es un grupo heterogéneo de polisacáridos, encontrado en frutas y vegetales, y obtenidos principalmente frutos cítricos y de pulpa de manzana. Constituye entre el 2 y 35 % de las paredes de las células vegetales. Se trata de un polisacárido constituido por 150 - 500 unidades de ácido galacturónico (peso molecular del polímero, 30 000 – 100 000) parcialmente esterificado con un grupo metoxilo. La cadena que constituye el esqueleto contiene también restos de L-ramnosa y está ramificada con cadenas laterales compuestas mayoritariamente por β -D-galactopiranososa y α -L-arabinofuranosa. La pectina es ampliamente utilizada como un ingrediente funcional en la industria alimenticia, debido a su habilidad de formar geles acuosos. Se utiliza en jaleas y mermeladas, preparaciones de frutas, concentrados de jugo de fruta y productos lácteos fermentados. (Charchalac, 2008)

Las pectinas se obtienen de materiales vegetales que tienen un alto contenido de éstas, tales frutas cítricas, manzanas, piña, guayaba dulce, tomate de árbol, maracuyá y remolacha. Según el tratamiento que se haga a las materias primas se obtienen diferentes calidades de pectinas, de acuerdo con las necesidades de los productos terminados. (Devia, 2003)

Se encontró que el albedo (o parte pulposa del fruto) viene a constituir del 20 al 40 % en peso de la totalidad del fruto; contiene del 75 - 85 % de agua, mientras que sus principales componentes se encuentran distribuidos de la siguiente forma: azúcares en frutos maduros 40 %, celulosa 30 % y sustancias pécticas de 30 %. (Gomez, y otros, 2001)

Figura 1-1 Estructura química de la pectina



Fuente: Villegas, Yipmantin, Guzman, Pumachagua, & Maldonado, 2011

La cantidad y calidad de pectina útil que presentan los frutos dependen de la especie y del tipo de fruto, de la cantidad que el fruto contiene naturalmente, del estado de maduración en la cosecha, de las condiciones de manejo y de la actividad enzimática después de la recolección y desde luego, del proceso de extracción. Dependen también de la parte del fruto que se utilice y de la tecnología empleada en el proceso de obtención. En frutos sin madurar la mayor cantidad de material péctico es insoluble en agua, la cantidad y la solubilidad aumentan con la madurez; esto genera cambios en la firmeza del fruto. (Muñoz F. , 2011)

1.1.1. Clasificación de las sustancias pécticas

Según cuántos grupos carboxílicos están esterificados en la cadena o polímero, se clasifican en:

1.1.1.1. Protopectina

Si todos los carboxilos están esterificados. Éstas son insolubles en agua y se hallan en mayor cantidad en los tejidos de los frutos no maduros o verdes.

Durante la etapa de maduración, la protopectina insoluble posee un 100 % de metoxilación; se transforma en pectina soluble al perder metoxilos, lo que conlleva a

la pérdida de firmeza de los frutos. Es por esto que la mayor concentración de protopectina se encuentra en los tejidos vegetales en crecimiento. (Nizama, 2015)

1.1.1.2. Ácidos pectínicos

Este término define los ácidos poligalacturónicos coloidales, que contienen una porción variable de grupos metoxilos. Se originan de los ácidos poligalacturónicos puros de la protopectina por esterificación de algunos grupos carboxilos libres de metanol por acción de una enzima llamada pectinmetilesterasa la cual va solubilizándola.

Los ácidos pectínicos, bajo condiciones apropiadas, son capaces de formar geles con ácido y azúcar, así como, si la cantidad de grupos metil éster es baja, en presencia de ciertos iones polivalentes. Las sales de estos ácidos se llaman pectinatos.

1.1.1.3. Pectinas

Las pectinas son un tipo de heteropolisacáridos, es una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Son el principal componente de la lámina media de la pared celular y constituyen el 30 % del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de agua y azúcar forman geles, determinan la porosidad de la pared, y por tanto el grado de disponibilidad de los sustratos de las enzimas implicadas en las modificaciones de la misma. Las pectinas también proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico.

Las pectinas son de alto peso molecular, solubles en agua caliente y que tienen polímeros de ácido galacturónico con una cantidad variable de grupos éster metílicos.

La principal característica es su capacidad de formar geles en presencia de suficientes sólidos solubles, ácidos o iones polivalentes.

Su precursor es la protopectina, que es una sustancia péctica insoluble en agua que origina pectina soluble por despolimerización parcial.

1.1.1.4. Ácidos pécticos

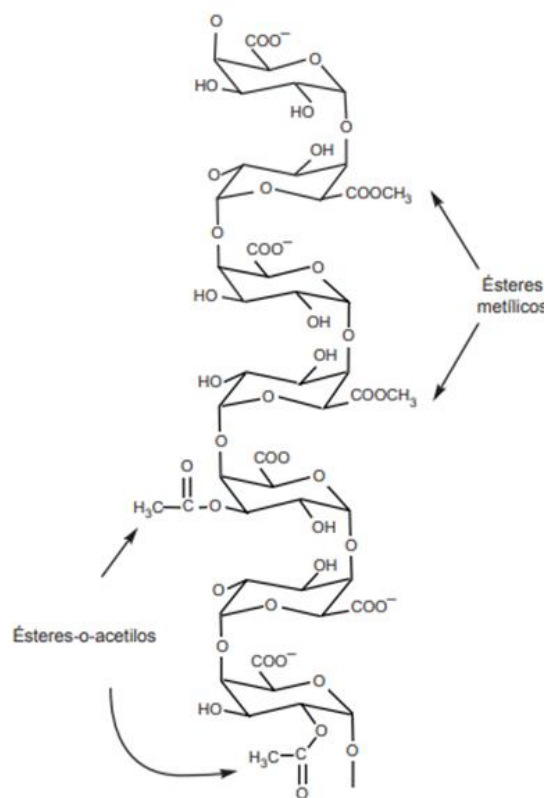
Estos compuestos no poseen grupos carboxílicos esterificados. Las sales de estos se denominan pectatos y reaccionan fácilmente con los iones calcio de las células para producir compuestos insolubles en los jugos de frutas, dando un precipitado visible comúnmente en la separación de fases o abanderamiento en los néctares. (Cabarcas, Guerra, & Henao, 2012)

1.1.2. Estructura de pectina

1.1.2.1. Homogalacturona (HG)

Está compuesto por ácido D-galacturónico (AGal) unidos por un enlace α (1-4). Los grupos carboxilo del C₆ (carbono número 6 del AGal) pueden estar metil-esterificados o permanecer libres. Los grupos carboxilo libres, si están disociados, dan lugar a enlaces de calcio entre las cadenas de HG vecinas. Para que una región de HG sea sensible al enlace de calcio son necesarias diez moléculas de AGal sin esterificar, la formación de enlaces de este tipo está relacionada con la detención de la extensión de la pared celular y, por tanto, con el cese del crecimiento y el aumento de rigidez de la pared. El AGal puede encontrarse acetilado en O₂ (oxígeno número 2 del AGal) o en O₃.

Figura 1-2 Estructura primaria del polímero lineal homogalacturona unido con 1,4 α D-ácido galacturónico

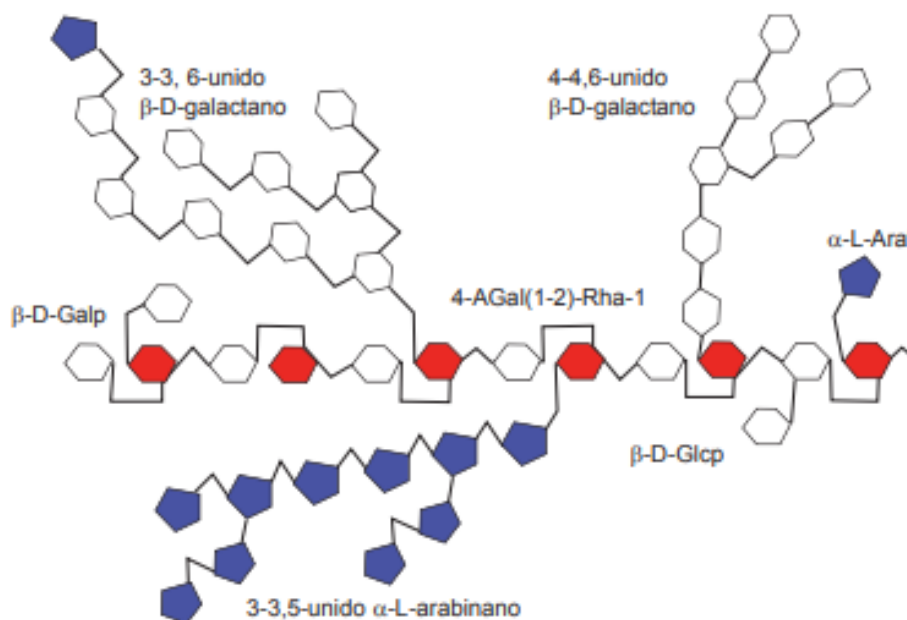


Fuente: Chasquibol, Arroyo, & Morales, 2008

1.1.2.2. Rhamnogalacturona-I (RG-I)

Consiste que el AGal enlazado en α -(1-4) con restos de L-ramnosa (Rha) intercalados con un enlace α -(1-2); es decir: [(1-2)- α -L-Rha-(1-4)- α -D-AGal] $_n$, donde n puede ser mayor de 100. Estos restos de Rha son el anclaje de cadenas laterales, aproximadamente la mitad están unidas por el C₄ a cadenas de arabinanos, formados por α -L-arabinosa (Ara) enlazadas en α (1-5) como eje principal que pueden estar sustituidas con las cadenas Ara(1-2)- α -Ara (1-3) y/o Ara(1-3)- α -Ara(1-3); o Arabinogalactano-I (AG-I), cadenas de β -(1-4)-D-galactosa (Gal), con ramificaciones C₆-Gal. Pueden estar sustituidas también en α (1-5)Ara en el C₃ de Gal.

Figura 1-3 Estructura principal del polisacárido péptico de la rhamnogalacturona-I (RG-1)

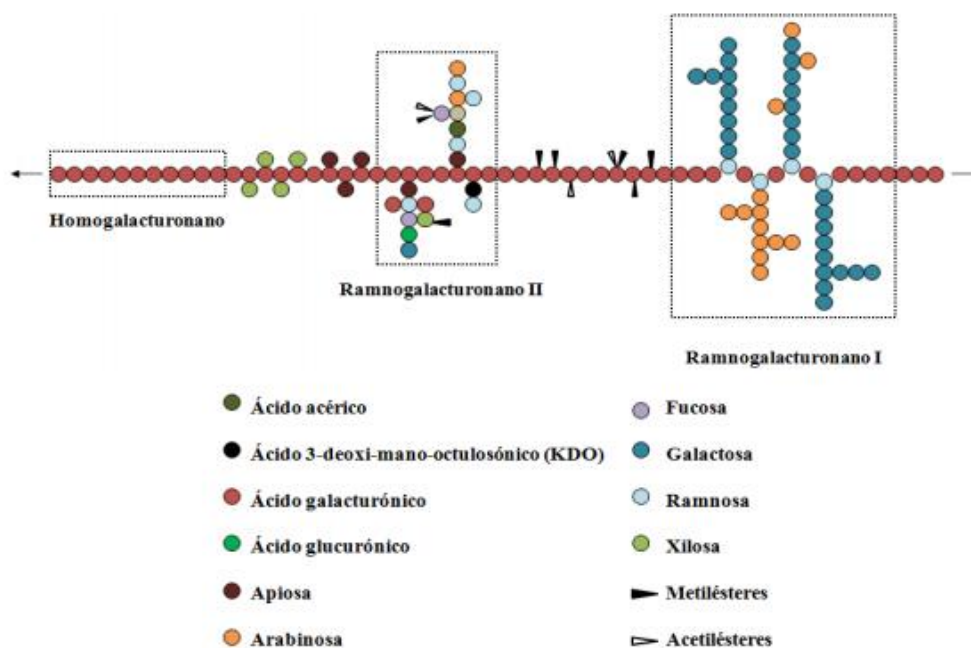


Fuente: Chasquibol, Arroyo, & Morales, 2008

1.1.2.3. Rhamnogalacturona-II (RG-II)

Polisacárido pequeño de estructura muy compleja; formado por Rha, Ara, Gal y pequeñas cantidades de azúcares poco frecuentes como apiosa, o ácido acérico. Los restos Rha pueden estar sustituidos en C₃; en C₃ y C₄, en C₂, C₃, y C₄ o ser terminales. El arabinogalactano del RG-II presenta ramificaciones en C₃ y C₆ de Gal y en C₃ y C₅ de Ara. Las cadenas laterales contienen un alto número de residuos distintos unidos con diversos enlaces, aun así, el RG-II tiene una estructura altamente conservada y puede formar dímeros mediante un puente borato, con dos enlaces éster. (Chasquibol, Arroyo, & Morales, 2008)

Figura 1-4 Estructura básica de la pectina



Fuente: Muñoz N. , 2015

1.1.3. Propiedades fisicoquímicas de la pectina

Las propiedades fisicoquímicas de las pectinas relacionadas con la función que desarrollan como fibra y como agente espesante en los alimentos, están determinadas, en gran medida, por el grado de metoxilación de los grupos ácido carboxílicos (R-COOH) de las pectinas dependen del grado de metoxilación.

1.1.3.1. Contenido de metoxilos

Se entiende por contenido de metoxilos a los grupos carboxilos de una cadena de pectina se encuentran parcialmente esterificados por radicales metoxilos (-O-CH₃). Una pectina completamente metoxiladas alcanzaría un 16.32 % de grupo metoxilos, pero hasta hoy no se ha logrado aislar una de este tipo. La importancia de la metilación, radica en su relación con la propiedad más importante de formar geles, aunque existen discrepancias sobre cuán realmente importantes es su proporción dentro de la estructura de la pectina. (Nizama, 2015)

1.1.3.2. Grado de esterificación (GE)

El grado de esterificación (GE) se refiere al porcentaje de grupos carboxilo que son esterificados con metanol. El número y distribución de los grupos éster metílicos a lo largo de la molécula juegan un papel importante en la solubilidad, propiedades de espesamiento, capacidad de gelificación, que son condiciones requeridas para las propiedades finales del gel. (Muñoz F. , 2011)

El grado de metoxilación o esterificación tiene un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1 **Relación entre grado de esterificación y contenido de metoxilos**

Grado de esterificación (%)	Contenido de metoxilos (%)
0	0.00
10	1.63
20	3.26
30	4.90
40	6.53
50	8.16
60	9.79
70	11.42
80	13.06
90	14.69
100	16.32

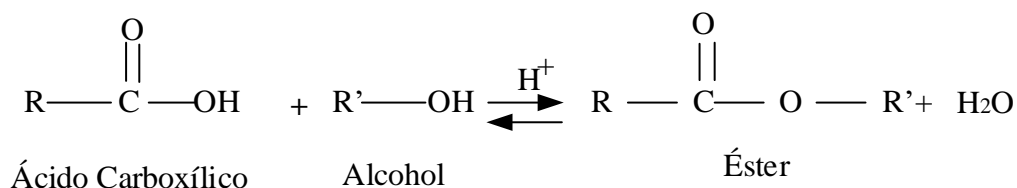
Fuente: Nizama, 2015

El grado de esterificación o de metoxilación es un parámetro importante en la estimación del comportamiento de una pectina en cuanto a su velocidad de dispersión en soluciones acuosas, tiempo de gelificación del gel producido con ella, sensibilidad a cationes polivalentes y su capacidad para formar geles normales o de bajo contenido de sólidos.

Las pectinas están clasificadas como de alto y bajo metoxilo, se realizan en base a su grado de esterificación siendo este término el número de funciones carboxílicas que han sido metoxiladas en cada 100 grupos de ácido galacturónico. La separación entre

las pectinas de alto metoxilo y las pectinas de bajo metoxilo es arbitraria del 40 al 50 % de (GE). (Pagan , 1999)

Figura 1-5 Conversión a éster (esterificación de Fisher)



Fuente: Morrison & Boyd, 1998

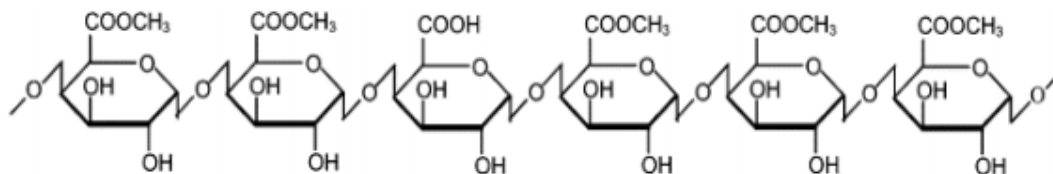
1.1.3.2.1. Pectina de alto metoxilo (PAM)

Son aquellas en las cuales más del 50 % de los grupos carboxilos del (C₆H₁₀O₇) del polímero se encuentra esterificado con metoxilo lo cual le permite ser soluble en agua. Cabe aclarar que si se tuviera una pectina con 100 % de esterificación sería más bien una protopectina.

El (GE) de las pectinas de alto metoxilo influye mucho sobre sus propiedades, en particular, a mayor grado de esterificación, mayor es la temperatura de gelificación. Este tipo de pectinas requieren de grandes cantidades de azúcar (55 - 85 %), un pH bajo de 2 a 4.5 y elevada temperatura para formar gel con características rígidas y sólidas que los geles de pectinas con bajo metoxilo, pero estas pectinas sufren rápidas degradaciones en medios alcalinos.

Estas se gelifican debido a interacciones hidrofóbicas y a los puentes de hidrógeno entre las moléculas de la pectina. (Muñoz F. , 2011)

Figura 1-6 Pectina de alto metoxilo



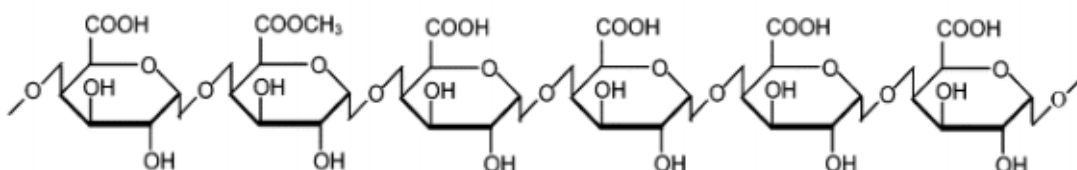
Fuente: Martinez, 2013

1.1.3.2.2. Pectina de bajo metoxilo (PBM)

Son aquellas en las cuales menos del 50 % de los grupos carboxilo están esterificados con metoxilo. Este porcentaje indica que de 100 grupos carboxílicos solamente 50 o menos están esterificados con grupos metoxilo. Si la metoxilación es de 0 % sería un ácido péctico.

Este tipo de pectinas pueden formar geles con o sin azúcar, para la formación del gel requieren la presencia de cationes divalente, generalmente se emplea calcio (40 a 100 mg) el factor predominante en la formación del gel. En este caso la formación del gel ocurre por la formación de enlaces de dichos cationes con moléculas de pectina. Los geles se pueden obtener entre pH 1 a 7; el cual no afecta la textura del gel ni el intervalo de sólidos solubles, lo cual es una considerable ventaja de uso frente a las pectinas de alto metoxilo, pero las características de gel, como firmeza, plasticidad y resistencia al calor, son inferiores a la de las pectinas de alto metoxilo.

Figura 1-7 Pectina de bajo metoxilo



Fuente: Martinez, 2013

1.1.4. Propiedades físicas de la pectina

1.1.4.1. Longitud de cadenas

“Determina la consistencia del gel y está por lo tanto íntimamente relacionada con el poder gelificante” (Cabarcas , Guerra, & Henao, 2012).

1.1.4.2. Peso molecular

El peso molecular de las pectinas varía de acuerdo a la materia prima, condiciones de extracción, y procedimientos de purificación. En base a viscosimetría, el peso molecular de las pectinas comerciales normalmente se encuentra dentro del rango de 50 000 a 150 000 Dalton. (Gomez, y otros, 2001)

Dalton que también se le conoce como unidad de masa atómica unificada, es una unidad estándar de masa empleada en física de partículas y bioquímica, corresponde a la doceava (1/12) parte de la masa de un átomo de Carbono-12 y equivale a $1.660\,538\,921\,(73) \times 10^{-27}$ kg.

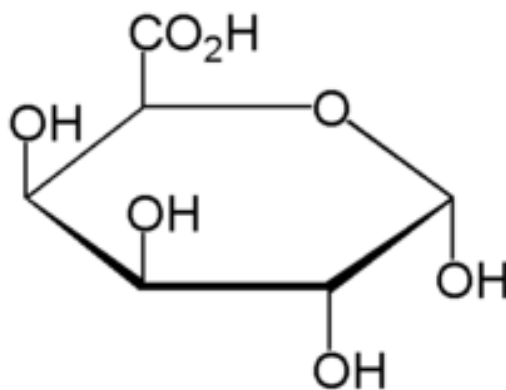
1.1.4.3. Peso equivalente

“Depende del grado de esterificación y puede ser definido como el número de gramos de ácido poligalacturónico puro por equivalente de grupos carboxilo libres” (Nizama, 2015).

1.1.4.4. Ácido galacturónico

Define la pureza del precipitado y comprueba que el producto sea una pectina, puesto que este, es un polímero de ácido galacturónico. Si el contenido de ácido galacturónico ($C_6H_{10}O_7$) está por debajo de aprox. 70 % indica la presencia de ácido no urónico y si la pectina cítrica tiene más de 74 % de $C_6H_{10}O_7$ es considerado de alta pureza.

Figura 1-8 Ácido galacturónico



Fuente: Elaboración propia, 2019

1.1.4.5. Acidez

Las pectinas son neutras en su estado natural, en solución tienen carácter ácido el cual depende del medio y del GE. El pH de las soluciones de pectina varía entre 2.8 y 3.4 como función del GE. (Cabarcas , Guerra, & Henao, 2012)

1.1.4.6. pH

Las trazas de ácido mineral que contaminan las pectinas (derivadas de tratamiento de extracción y purificación) pueden afectar la concentración de iones hidrógeno (H^+) en mayor magnitud de lo que afectaría la acidez titulable. La alta alcalinidad-baja acidez acompaña a un pH alto, mientras que a una baja alcalinidad-alta acidez lo hace con un pH bajo, la pectina de alto metoxilo formará geles a pH entre 2 y 4.5, con contenidos de azúcar entre el 55 % como mínimo y el 85 % como máximo. (Gomez, y otros, 2001)

Un porcentaje alto de grupos ácido disociados respecto a no disociados hace la pectina más hidrofílica. Por lo tanto, la tendencia a gelificar aumenta considerablemente al bajar el pH.

1.1.4.7. Poder de gelificación

Se entiende por grado o poder de gelificación al valor que significa las unidades de peso de azúcar con respecto a una unidad de peso de la pectina, bajo condiciones adecuadas para formar un buen gel.

Se define como los gramos de azúcar necesarios para formar gel que se expresan como grados SAG empleando el método SAG desarrollado por el US IFT en 1959. La pectina es el agente formador del gel, mientras que el azúcar y el ácido son los agentes modificadores que logran la transformación física de ésta, convirtiéndole en gel.

Las pectinas de alto metoxilo pueden subdividirse en dos grupos: las de gelificación rápida, que tienen un tiempo de gelificación menor a 5 min y un grado de esterificación con CH_3OH entre 68 y 75 %, y las de gelificación lenta, que tienen un tiempo de gelificación mayor de 5 min y un grado de esterificación con CH_3OH entre 60 y 68 %. (Muñoz F. , 2011)

Las pectinas de bajo metoxilo pueden dividirse en tres grupos: las de gelificación rápida que poseen una alta reactividad con iones Ca^{+2} y contienen un grado de esterificación aproximadamente del 30 %; las de gelificación media, que poseen una reactividad intermedia con (Ca^{+2}) y contiene un grado de esterificación aproximada del 32 %; y, por último, las de gelificación lenta que poseen una reactividad media con Ca^{+2} y contienen un GE aproximada del 35 %. (Muñoz F. , 2011)

Un gel de pectina puede considerarse como un sistema en el cual el polímero está en una forma entre completamente disuelto y precipitado. Las propiedades del gel son el resultado neto de interacciones complejas entre el soluto y solvente. La influencia del agua como solvente y la magnitud de las fuerzas intermoleculares que mantienen la integridad del gel permiten tener una gran capacidad de retención de agua. (Pagan , 1999)

1.1.4.8. Solubilidad

El agua es el mejor solvente para la pectina y forman una solución coloidal, de fácil fluidez, ácida al papel tornasol e insoluble en alcohol o en alcohol diluido y en otros solventes orgánicos y en, polímeros, proteínas y cationes polivalentes; estos agentes se emplean para precipitar la pectina de las soluciones después de un proceso de hidrólisis por tratamiento de la materia prima. (Cabarcas , Guerra, & Henao, 2012)

1.1.4.9. Viscosidad

Las pectinas forman soluciones viscosas en agua, esta propiedad está en función del grado de esterificación de la pectina, temperatura, pH, presencia de sales y su concentración, al disminuir la concentración o el grado de metoxilación, la viscosidad aumenta. (Gomez, y otros, 2001)

En las pectinas de alto grado de esterificación, la viscosidad de sus soluciones aumenta al incrementar su peso molecular, los grupos laterales y su concentración. El calcio y otros iones polivalentes aumentan la viscosidad de las soluciones de las pectinas de bajo metoxilo. (Cabarcas , Guerra, & Henao, 2012)

1.1.4.10. Coloidalidad

“La pectina es un coloide hidrofílico reversible, ya que puede ser disuelta, precipitada, secada, recuperada y redisolta en agua sin perder su capacidad para formar geles” (Gomez, y otros, 2001).

1.1.4.11. Longitud

La longitud de la molécula condiciona la rigidez o firmeza del gel. A valores de longitud muy bajos una pectina no da geles, cualquiera que sea la dosis empleada y las restantes condiciones del medio. (Pagan , 1999)

1.1.5. Propiedades químicas de la pectina

1.1.5.1. Reactividad

Las sustancias pécticas son carbohidratos complejos ya que, a diferencia de la gran mayoría de los polisacáridos, estas contienen grupos carboxilo que pueden estar protonados (COOH) a $\text{pH} < 3$; en forma ionizada (COO^-) a $\text{pH} > 3$, o como éster metílico (COOCH). (Gomez, y otros, 2001)

1.1.6. Propiedades sensoriales de la pectina

La pectina presenta un color blanco amarillento y sin olor, además de presentar un gusto de aspecto mucilaginoso, así mismo su tamaño de partículas deberá estar comprendido entre la malla 60 y 80 ASTM. (Gomez, y otros, 2001)

1.1.7. Propiedades microbiológicas de la pectina

Debido a que la pectina es un polisacárido que se encuentra principalmente en medios ácidos, la cuenta de levaduras y hongos son muy relevantes para el usuario. Debe cumplir con los siguientes parámetros:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-2 **Análisis microbiológico de la pectina**

Cuenta total de placa (37 °C)	Menos de 500/g
Cuenta de hongos y levaduras (25 °C)	Menos de 10/g
Escherichia coli	Prueba negativa
Salmonella	Prueba negativa
Estafilococos	Prueba negativa

Fuente: Gomez, y otros, 2001

1.2. Hidrólisis ácida

Existen muchos procesos patentados para obtener pectinas; en cada uno de ellos, se obtienen productos de diferente calidad; así sus aplicaciones dependen mucho del método de obtención. Esto es entendible considerando la complejidad estructural y la variación natural de estos polisacáridos de las plantas, que dependen por ejemplo de la especie, condiciones de maduración y del tipo de almacenamiento.

La extracción de pectinas por hidrólisis ácida se lleva a cabo a altas temperaturas, bajo pH. La presencia del ácido en medio acuoso a temperaturas elevadas ayuda a un rápido y brusco rompimiento de las paredes celulares de la corteza del fruto y la pectina se separa de los desechos de diferentes frutos mediante la acidificación. Comercialmente las pectinas se extraen a altas temperaturas al hidrolizar la protopectina usando ácidos tales como HCl, HNO₃, C₆H₈O₇ y H₂SO₄.

Los polisacáridos tienen la particularidad de hidrolizarse a compuestos más simples mediante una sustitución nucleofílica provocada por la adición de un ácido capaz de donar el protón necesario para favorecer la fragmentación la cadena de la molécula por la acción del agua.

Posteriormente al pretratamiento se procede a agregar el ácido y cierta cantidad de agua para someter a calentamiento a reflujo constante, las condiciones experimentales se deben ajustar de acuerdo al material a tratar, pudiéndose modificar el tipo de ácido

utilizado, las concentraciones de este en la solución, la temperatura de calentamiento y el tiempo al que se someterá.

1.3. Inactivación enzimática de la pectina

Las enzimas pécticas comprenden un grupo muy diverso de enzimas. Teniendo en cuenta la complejidad del sustrato, se espera una gran cantidad de tipos diferentes de enzimas.

Las enzimas pécticas se pueden clasificar dependiendo del tipo de actividad que catalizan, en dos grupos: las desesterificantes (pectín esterases) y las despolimerizantes. Las primeras catalizan la hidrólisis de los ésteres metílicos del ácido poligalacturónico, liberando metanol al medio y convirtiendo las pectinas en ácidos pécticos. Las segundas son un grupo más numeroso de enzimas capaces de desdoblar las cadenas de ácido poligalacturónico de diverso grado de esterificación en unidades de menor tamaño. (Vasquez, Ruesga, D'addosio, Páez, & Marín, 2008)

Para la extracción de pectina se inactivaron estas enzimas al calentar hasta su ebullición la materia prima: pectín esterases son responsables de la hidrólisis de grupos éster metílicos que inducen la formación de metanol y por ende pectinas de menor metoxilo que solo es sensible en presencia en calcio; así como, las poligalacturonasas que rompen los enlaces glucosídicos entre las moléculas poligalacturónicas, despolimerizando la cadena de ácido poligalacturónico, por lo tanto, disminuyendo su peso molecular de la pectina.

1.4. Precipitación

La precipitación es un proceso de obtención de un sólido a partir de una disolución. Puede realizarse por una reacción química, por evaporación del disolvente, por enfriamiento repentino de una disolución caliente, o por cambio de polaridad del disolvente. El sólido así obtenido se denomina precipitado y puede englobar impurezas. En general será necesario cristalizarlo y recristalizarlo.

La precipitación química es un proceso de tres pasos que consiste en: coagulación, floculación y sedimentación. (Quesadae, 2017)

1.4.1. Coagulación

En esta etapa las fuerzas entre las partículas de los contaminantes se reducen o eliminan mediante la adición de productos químicos, lo que permite la interacción de partículas mediante el movimiento molecular y la agitación física. La mezcla rápida permite la dispersión en el agua residual del producto químico utilizado en el tratamiento y promueve el choque de partículas, lo que hace que las partículas se agrupen para formar otras de mayor tamaño, es decir, la coagulación. Los productos químicos añadidos para promover dicha agregación se denominan coagulantes y tienen dos propósitos básicos: El primero es desestabilizar las partículas lo que permite la interacción, y el segundo es promover la agrupación de partículas reforzando así la floculación.

1.4.2. Floculación

Se produce después de un período de mezcla rápida ya que es necesario disminuir la velocidad de la mezcla para que se formen flóculos más grandes. (Si la velocidad de mezcla es alta, los flóculos continúan siendo destruidos por excesivo contacto físico).

1.4.3. Sedimentación

Debido al tamaño de las partículas sigue siendo necesario algo de mezcla para que exista contacto entre las masas de sólidos y promover así la formación de flóculos que se sedimentarán rápidamente. Durante la precipitación, los sólidos se separan del líquido normalmente por sedimentación. lo que debe resultar en dos capas claramente visibles: una sólida y una líquida, que pueden separarse fácilmente.

1.5. Caracterización de la materia prima

1.5.1. Generalidades del limón

El origen de los cítricos se ubica en el sureste de la India y son introducidos por primera vez en Centroamérica por los religiosos españoles en la Época Colonial. Las primeras plantaciones a nivel comercial fueron establecidas en 1930, especialmente naranjas del tipo: valencia, Washington, y otros cítricos como: mandarinas y limones.

La mayor parte de especies de citrus son originarias de la India-Annan y Norte de Birmania (sureste del Himalaya), donde se encuentra en estado silvestre el limero, el limonero, el pomelo, el naranjo amargo y el naranjo dulce. Los cítricos se originaron hace unos 20 millones de años en el sudeste asiático. Desde entonces hasta ahora han sufrido numerosas modificaciones debidas a la selección natural y a hibridaciones tanto naturales como producidas por el hombre.

La dispersión de los cítricos desde sus lugares de origen se debió fundamentalmente a los grandes movimientos migratorios: conquistas de Alejandro Magno, expansión del islam, cruzadas, descubrimiento de América, etc. El limonero fue introducido por los árabes en el área mediterránea entre los años 1000 a 1200, siendo descrito en la literatura árabe a finales del siglo XII.

El cultivo de limón se introdujo en la cuenca mediterránea en el siglo que siguió a la conquista de Asia y el cultivo se extendió a todo levante, al África Septentrional, a Grecia y llegaría a Roma allá por el año 130 de la era cristiana, y fundamentalmente los romanos lo trajeron al Levante. Los conquistadores españoles introdujeron los agrios o los cítricos al continente americano, donde en la actualidad se obtiene más de la mitad de producción mundial. (Sánchez, 2012)

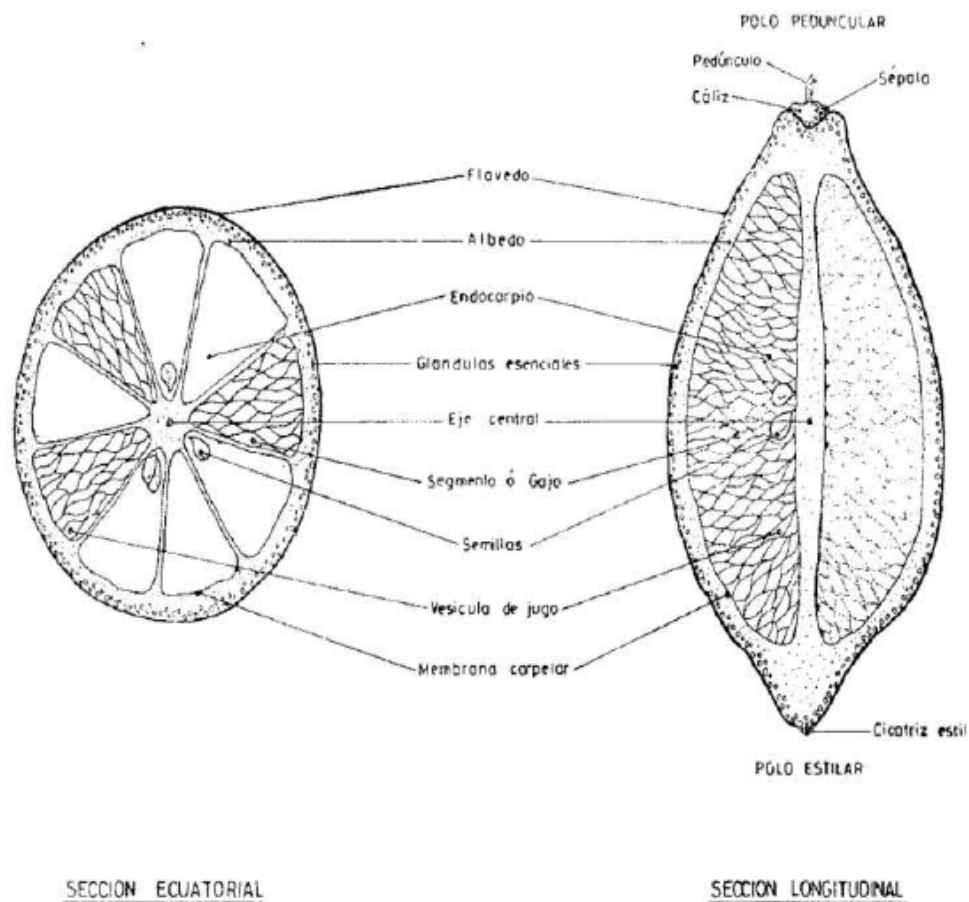
En Bolivia los cítricos fueron introducidos por los españoles y árabes especialmente los comerciantes de la época, éstos introdujeron a zonas como Tarija, Los Yungas (La Paz), parte del Chaco Chuquisaqueño (Huacareta, Rosario del Ingre, Monteagudo, San Juan del Piraí); de ahí se extendió a otros departamentos del país, a nivel comercial se cultiva en los departamentos de Cochabamba (Chapare) y Santa Cruz (Yapacaní, Porongo y la Zona Sur de la Chiquitanía y otras comunidades).

1.5.2. Morfología del limón (*Citrus limon Burmann*)

Si observamos el corte esquemático de un limón podemos apreciar la compleja estructura de estos frutos (figura 1-9). La corteza o piel está formada por una delgada capa exterior llamada epicarpio y el mesocarpio, unidos directamente. En el epicarpio distinguimos la epidermis constituida por membranas fuertemente cutinizadas,

recubiertas de sustancias ceras, y perforadas por numerosas estomas y la hipodermis fina zona de células parenquimatosas que contienen los plastidios cromatóforos, verdes en los frutos sin desarrollar (cloroplastos) y principalmente amarillos (cromoplastos) en el fruto maduro; aquí es donde se inician los haces libero-leñosos que penetran hacia el interior del fruto. (Sánchez, 2012)

Figura 1-9 Corte esquemático del limón



Fuente: Sánchez, 2012

El mesocarpio se divide en externo e interno. El límite del mesocarpio externo, que junto con el epicarpio constituye el flavedo, se confunde con la hipodermis y contiene numerosas glándulas oleíferas y plastidios cromatóforos. Estas cavidades, situadas a distintas profundidades de forma irregular contiene el aceite esencial. Debajo del

flavedo se localiza el mesocarpio interno o albedo: parte blanca esponjosa, compuesta de células parenquimatosas irregulares en tamaño y forma, con grandes espacios intercelulares.

El endocarpio es la parte interior del fruto, también llamada genéricamente pulpa comestible, consistente en segmentos (carpelos o gajos) distribuidos alrededor del corazón o eje central formado por un tejido similar al del albedo. Cada uno de estos segmentos, envuelto por una delgada membrana de tejido epidérmico, contiene en su interior perfectamente acopladas numerosas vesículas o sacos multicelulares, de pared muy sutil y con forma de huso, así como las semillas. El jugo es el líquido contenido en las vesículas y se obtiene al exprimir el fruto, arrastrando fragmentos de tejidos y pulpa, de los que separa por tamizado.

Una idea aproximada de la relación cuantitativa entre las distintas partes componentes del limón y de su contenido en sólidos aparecen en la tabla I-3.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**3 El limón**
(*Citrus limon Burmann*)

Limón	Porcentaje (%)	Sólidos totales (%)
Fruto entero	100	12
Flavedo	10	16 - 17
Albedo	20 - 40	15 - 20
Jugo	30 - 35	6 - 11
Tejidos y pulpa	25 - 30	10 - 12
Semillas	0.5 - 1.5	30 - 40

Fuente: Sánchez, 2012

1.5.3. Variedades del limón

1.5.3.1. Meyer

Este limón de origen chino recibe su nombre de Frank Meyer, la primera persona que importó este limón a Estados Unidos. Esta variedad de limón es un híbrido de limonero, naranjo y mandarino. Se caracteriza por su forma redondeada y su gran tamaño. La

corteza presenta un color amarillento, es lisa, blanda y fina. No tiene un aroma potente a limón, sino matices más suaves y su pulpa es muy jugosa y tierna.

1.5.3.2. Femminello

Representa la producción de limones italianos. El fruto depende un poco de la cosecha, no siempre es igual. La variedad de limón Femminello engloba diferentes selecciones de limones y tiene un tamaño medio, corteza muy gruesa, poca cantidad de zumo y mucha acidez.

1.5.3.3. Interdonato

El limón Interdonato es grande, alargado y de corteza lisa. No tiene una gran cantidad de zumo y su piel es delgada. Nizza (Sicilia) es el lugar de origen de esta variedad italiana.

1.5.3.4. Küttdiken

El lugar donde más se cultiva es en Turquía y sus características son similares a los limones Eureka y Femminello.

1.5.3.5. Verna

Su forma es alargada y los extremos acaban en punta. Casi no tiene semillas y presenta un nivel relativamente bajo de acidez. Es una de las principales variedades de limón europeo producido en España e Italia.

1.5.3.6. Primofiori o limón fino

También llamado fino, su forma es esférica a ovalada. La corteza de los frutos es fina, lisa y tiene mucho jugo y una delicada acidez. Tiene mayor número de semillas que la variedad Verna.

1.5.3.7. Génova

Se cultiva en la zona de América del Sur y se caracteriza por una corteza lisa, una buena cantidad de zumo y acidez.

1.5.3.8. Lapithkiotiki

Es una variedad típica de Chile y la más importante. Posee una piel fina y su pulpa es jugosa, buen zumo y con pocas semillas.

1.5.3.9. Monachello

Es una variedad de limón italiana de fruto más tardío y delicado al clima. Esta clase de limón no florece en todos los entornos. Por ello se suele injertar con naranja amarga para que puedan proliferar los frutos.

1.5.3.10. Verdelli

Es la segunda floración perteneciente a la variedad Verna. Lo incluimos como una variedad aparte ya que existen diferencias significativas en la composición y características de la clase Verna y Verdelli. Por ejemplo, la piel en la variedad Verdelli es más fina y lisa.

1.5.3.11. Villafranca

Esta variedad de limón tiene un alto contenido de semillas en su interior, más que la Eureka, sin embargo, son muy similares, por lo que cuesta diferenciarlos a simple vista.

1.5.3.12. Lisbon

Esta variedad es bastante similar a la variedad de limón Eureka en cuanto a cantidad de zumo y elevada acidez. Su principal diferencia es que su pezón es menos pronunciado y la textura más rugosa. Se cree que esta variedad americana tiene su origen en la variedad portuguesa gallego.

1.5.3.13. Eureka

La variedad Eureka es originaria de California (uno de sus principales productores) y se cultiva en Australia, Sudáfrica, Argentina e Israel. Este fruto es de tamaño medio, con una forma elíptica y generalmente presenta un pequeño cuello en la región peduncular. Su corteza es de un grosor medio-fino, suele ser lisa, salvo cuando se cultiva en climas mediterráneos, que aparece alguna rugosidad. Tiene un excelente contenido en zumo y elevada acidez. (Castillo, 2005)

La variedad Eureka es un fruto ovalado con una protuberancia como pezón en el ápice. La piel suele ser amarillo claro a pesar de que algunos limones están marcados con rayas longitudinales de color verde-amarilla o verde-blanco, es aromática, salpicada de glándulas de aceite; 1/4 a 3/8'' (6 - 10 mm) de espesor; la pulpa es de color amarillo pálido, con 8 a 10 segmentos, jugosos y ácidos.

Algunos frutos son sin semillas, la mayoría tienen unas pocas semillas, elípticas o ovaladas, puntiagudas, lisas, 3/8'' (9.5 mm) de largo, blancas por dentro.

1.5.4. Cáscara de limón

La cáscara de limón que está conformada por dos partes claramente visibles, el flavedo (parte externa de color amarillo) y el albedo (parte interna esponjosa de color blanco) este último es de interés dentro de la investigación ya que contiene aproximadamente 30 % de pectina.

La materia prima para el estudio es la cáscara de limón variedad Eureka (*Citrus limon Burmann*), de la provincia Gran Chaco del departamento de Tarija.

Se seleccionó la variedad Eureka debido a su amplia variedad de usos para aplicaciones culinarias e industriales, para fabricación de mermeladas, bebidas refrescantes, ácido cítrico, pectina, aceite esencial, etc. (Stechina, 2005)

Figura 1-10 Partes del limón



Fuente: Lemon World, 2018

Cuando los frutos cítricos aún están verdes, la mayor parte de las sustancias pécticas se encuentran en el albedo como protopectina insoluble, a medida que la maduración del fruto sigue adelante los tejidos se reblandecen y pierden cohesión, la protopectina se va convirtiendo en pectina soluble, es decir, hay una disminución de protopectina y un aumento de pectina soluble en agua. Cuando el fruto está completamente maduro aproximadamente 2/3 partes de las sustancias pécticas están en forma soluble; la transformación o hidrólisis de la protopectina, que se forma en los tejidos de las plantas durante la maduración. (Gomez, y otros, 2001)

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-4
Composición química de la cáscara de limón

Composición química de la cáscara de limón	
Lípidos	0.30 - 1.00 g
Fibras	4.70 - 4.90 g
Humedad	80 - 89 g
Calcio	11.00 - 85.00 mg
Cinc	0.100 - 0.106 mg
Cloro	4.50 - 5.00 mg
Fósforo	16.00 - 18.00 mg
Hierro	0.450 - 0.500 mg
Magnesio	12.00 - 28.00 mg
Manganeso	0.042 mg
Potasio	149.00 - 150.00 mg
Selenio	1.00 - 1.02 µg
Sodio	2.70 - 5.00 mg
Yodo	1.49 µg
Proteínas	0.50 - 1.00 kcal
Carbohidratos	1.90 - 3.20 g

Fuente: Citrus Limón, 2018

1.6. Caracterización del producto

Según el Codex Alimentarius, la pectina está calificada como aditivo alimentario autorizado y seguro, que no presenta peligro alguno al ser consumida por los seres humanos.

Los aditivos alimentarios como la pectina son sustancias no consumidas de forma regular ni directa por las personas, no constituyen un componente esencial en la elaboración de alimentos y pueden o no presentar características nutricionales; su adición en productos alimenticios se realiza para mejorar sus propiedades organolépticas (Norma Codex Stan 192-1995, pág.3). (Anexo 1)

En los alimentos regulados por la presente norma podrán emplearse conservantes y espesantes de conformidad con el Cuadro III de la norma general para los aditivos alimentarios (Norma Codex Stan 192-1995, pág.510). (Anexo 2)

De acuerdo al Código Europeo, se califica a la pectina como agente gelificante, espesante, emulsionante y estabilizante, cuya función es transformar la textura de los alimentos, siendo su característica más importante la formación de geles estables a diferentes condiciones. (Galeas, 2015)

La caracterización de la pectina a extraer debe cumplir los parámetros del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA).

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-5
Caracterización de pectina estándar

Componente	Especificación (pectina estándar)	Unidad
Grado de esterificación	74.71 ± 3.32	%
pH	2.8 - 3.60	-
Humedad	8.51 ± 1.96	% masa
Cenizas	3.77 ± 3.39	% masa
Contenido de azúcar	55 – 85	% masa
Peso equivalente	1 775.46 ± 1 143.78	mg/meq
Ácido galacturónico	68.29 ± 13.39	%
Contenido de metoxilo	6.93 ± 3.22	%
Acidez libre	0.78 ± 0.46	meq/g
Hierro	9.50	mg/100 g
Calcio	1 034.42	mg/100 g
Bacteriológico	-	-
Cuenta de hongos y levaduras (25 °C)	Menos de 10/g	-
Recuento total en placa	Menos de 500/g	-
Escherichia coli	Prueba Negativa	-
Salmonella	Prueba negativa	-
Estafilococos	Prueba negativa	-

Fuente: Barreto, Púa, De Alba, & Pión, 2017

1.7. Método de análisis de la pectina extraída de la cáscara de limón

Los métodos empleados para la caracterización de la pectina extraída a partir de la cáscara de limón fueron descritos por Suarez & Orozco:

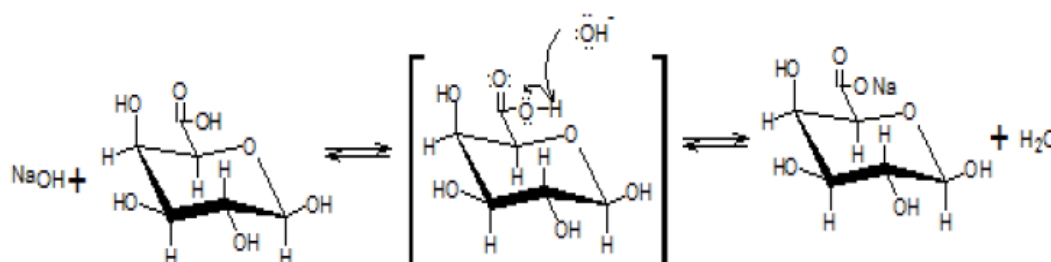
1.7.1. Determinación del peso equivalente

Aplicando el método de valoración ácido-base, se determina el peso equivalente de la pectina, al relacionar los miligramos del componente ácido (pectina) y los miliequivalentes de NaOH gastados en la valoración, tal como se aprecia en la siguiente ecuación:

$$\text{Peso equivalente} = \frac{\text{mg componente ácido}}{\text{meq NaOH}} \quad \text{Ec. (1-1)}$$

La estructura de la pectina está constituida principalmente por monómeros de ácido D-galacturónico, molécula que presenta el grupo carboxilo (-COOH) como grupo funcional, por lo tanto, el peso equivalente representa el número de carboxilos libres, el cual reacciona con la base adicionada, de tal forma que su grupo funcional -COOH, quien da las propiedades ácidas a la molécula, sufre la separación del protón debido a la acción de la base:

Figura 1-11 Reacción química de la molécula de ácido D-galacturónico con NaOH



Fuente: Muñoz P. , 2016

1.7.2. Determinación de acidez libre

La acidez libre se determina aplicando la relación de los meq de NaOH consumidos (que representan los carboxilos libres presentes en el componente ácido) y el peso de la pectina en g, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez libre} = \frac{\text{meq NaOH}}{\text{g componentes ácido}} \quad \text{Ec. (1-2)}$$

1.7.3. Determinación del porcentaje de metoxilo

Las moléculas de ácido D-galacturónico presentan grupos metoxilo, la cantidad de estos grupos funcionales permiten evaluar la facilidad de la pectina para formar, y así clasificarla como PBM, o de PAM, además de determinar la sensibilidad de la pectina a la presencia de cationes polivalentes.

Este indicador, corresponde al número de grupos metoxilo que se encuentran esterificando los grupos carboxílicos. El método para determinarlo se basa en la neutralización de los grupos carboxílicos con NaOH 0.1 N en presencia de rojo de fenol, agregando exceso medido de NaOH 0.25 N, para saponificar los grupos -COOCH₃ que pasan a -COONa y finalmente se titula el exceso de NaOH. (Súarez & Orozco, 2014)

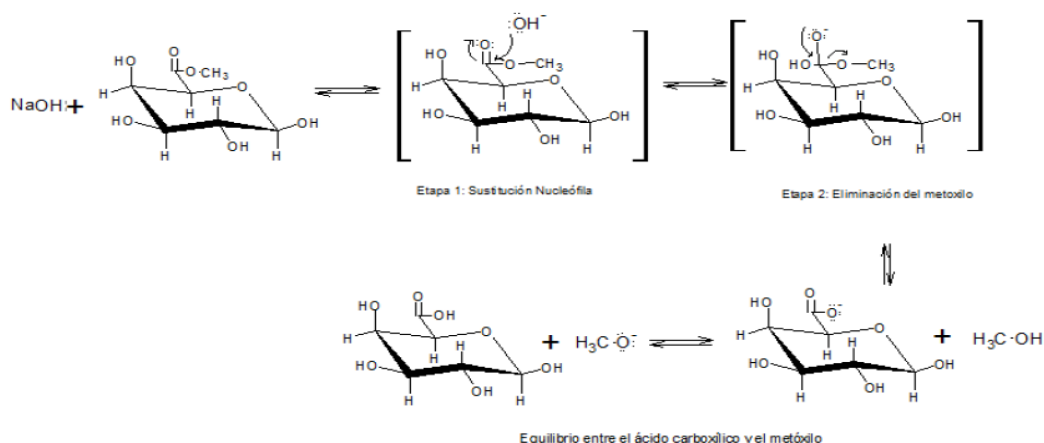
El porcentaje de metoxilo se determina partiendo de la solución de la valoración del peso equivalente, la que se coloca en un matraz con tapa esmerilada y se le adiciona 25 ml de NaOH 0.25 N y se agita fuertemente a temperatura ambiente, se deja en reposo unos 30 min, luego se le agrega 25 ml de HCl 0.25 N y se titula el exceso de HCl con NaOH 0.1 N.

El porcentaje de metoxilo, se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Metoxilo} = \frac{\text{meq B} \cdot 31 \cdot 100}{\text{mg componente ácido}} \quad \text{Ec. (1-3)}$$

Donde 31 es el peso molecular del metoxilo (-O-CH₃) expresado en mg/meq y meq B son los meq de NaOH gastados en la determinación del contenido de metoxilo.

Figura 1-12 Mecanismo de saponificación del ácido D-galacturónico



Fuente: Muñoz P. , 2016

1.7.4. Determinación del grado de esterificación (GE)

El GE relaciona los carboxilos de urónicos esterificados y los carboxilos totales de urónicos el cual se obtiene:

$$\% \text{ GE} = \frac{\text{meq B}}{(\text{meq A} + \text{meq B})} * 100 \quad \text{Ec. (1-4)}$$

Donde los meq A equivalen a los miliequivalentes de NaOH gastados en la determinación de la acidez libre y meq B son los miliequivalentes de NaOH gastados en la determinación del contenido de metoxilo. (Súarez & Orozco, 2014)

1.7.5. Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico (AAG)

El porcentaje de AAG, permite conocer el grado de pureza de la sustancia péctica, debido a que la pectina es un polisacárido constituido no solo por ácido D-galacturónico, sino también en su estructura el 10 % o más de la cadena pueden representar otros azúcares, como arabinosa, glucosa y ramnosa. Su determinación se fundamenta en el método de valoración descrito para la determinación de la acidez libre y porcentaje de metoxilo (Súarez & Orozco, 2014), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ AAG} = \frac{\text{meq B} * 31 * \text{mg pectina}}{176 * 100 * (\text{meq A} + \text{meq B})} * 100 \quad \text{Ec. (1-5)}$$

Donde:

176: es el peso molecular del ácido anhídrido galacturónico (AAG) expresado en mg/meq.

31: es el peso molecular del metoxilo (-O-CH₃) expresado en mg/meq.

1.7.6. Grado de gelificación

Expresa la cantidad de azúcar (sacarosa) que gelificará una parte de pectina para obtener una firmeza dada bajo condiciones establecidas de pH = 3.2 – 3.5; de 65 a 70 ° Brix y pectina dentro de los límites de 0.2 a 1.5 %.

Para esta prueba, se prepara una escala entre 0.4 y 1.4 g de pectina, éstas se incluyen a vasos de precipitación de 200 ml de capacidad, luego se lleva a ebullición hasta la disolución completa de la pectina, luego se agrega 100 g de sacarosa, se diluye completamente y se agrega agua hasta peso de 150 g, finalmente se adiciona ácido cítrico hasta obtener el pH adecuado (3.2 – 3.5), estos geles se dejan reposar por 24 h y luego se procede a desmoldar evaluándose las características de cada uno de ellos en forma visual para calcular el grado de gelificación. (Súarez & Orozco, 2014)

Se elige el gel que presenta las características más apropiadas y se aplica la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de Gelificación} = \frac{\text{g de sacarosa}}{\text{g de pectina}} \quad \text{Ec. (1-6)}$$

1.8. Antecedentes

Una nueva alternativa de materia prima para la extracción de pectinas cítricas; para lo cual se han realizado algunas investigaciones que se detallarán a continuación.

La extracción de pectinas cítricas fue estudiada por (Devia, 2003) en este trabajo de investigación se presenta un proceso de producción de pectinas a partir de la cáscara de naranja valencia, con extracción por hidrólisis en medio ácido, y precipitación con alcohol etílico.

Se obtuvieron un producto de buena apariencia y de características de gelación comparables a las de productos del mercado internacional. Recomienda un análisis químico completo para cumplir con especificaciones internacionales, que son diferentes según el uso que se le vaya a dar a éste.

Obtuvo un rendimiento de extracción de pectina al 10 % y con buenas características de gelación por una extracción en medio ácido, con un pH cercano a 2.0 y con un tiempo de hidrólisis de unos 30 a 40 min, para mejorar el rendimiento se puede hacer una segunda hidrólisis del residuo que se obtiene una vez filtrada la mezcla inicial.

Se observó que la apariencia de la pectina es diferente si se trata la cáscara completa o si se retira únicamente el albedo. En el primer caso resultó una pectina de color amarillo, mientras que en el otro caso se obtiene un material muy blanco.

Aminta y Manrique (2004) realizaron la extracción de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi* a través de una hidrólisis ácida a diferentes condiciones de pH y tiempos de extracción.

Para la extracción se realizó con un rango de pH de 2.5, 2.8 y 3.2 y tiempos de extracción 45 min, 60 min y 75 min bajo un diseño factorial de 3^2 , a una temperatura de 85 °C.

Obtuvo un mayor rendimiento a un pH y tiempo de extracción óptimos son pH 3.2 y 75 min, manteniendo constante la temperatura a 85 °C, en ambas variedades de naranja, además estos resultados dieron positivas las pruebas realizadas como lo son identificación, porcentaje de ácido galacturónico, como también porcentaje de grupos metoxilo.

Con la variedad *Citrus paradisi* obtuvo un mayor rendimiento de pectina (39.56 %) que la variedad *Citrus sinensis* (12.52 %), en las mismas condiciones (tiempo = 75 min y pH = 3.2).

1.9. Procesos tecnológicos empleados

Para la extracción de pectina se emplea los siguientes procesos:

1.9.1. Hidrólisis ácida convencional

La pectina es extraída mediante hidrólisis ácida, donde una vez precipitado es extraído, lavado, secado y molido.

La materia prima se corta en trozos y se procede a la inactivación de enzimas pécticas, la extracción consiste, básicamente, en la hidrólisis ácida (la etapa más importante). Las etapas subsecuentes son: la operación de clarificado, donde se separa la solución de pectina del bagazo, una precipitación alcohólica y posterior centrifugado o filtrado, donde se aísla la pectina de dicha solución. Finalmente, la pectina húmeda se seca con aire caliente hasta una humedad apropiada, para luego lograr la homogeneización del tamaño de partícula del producto mediante el pulverizado. (Zegada, 2015)

Figura 1-13 Diagrama de hidrólisis ácida convencional



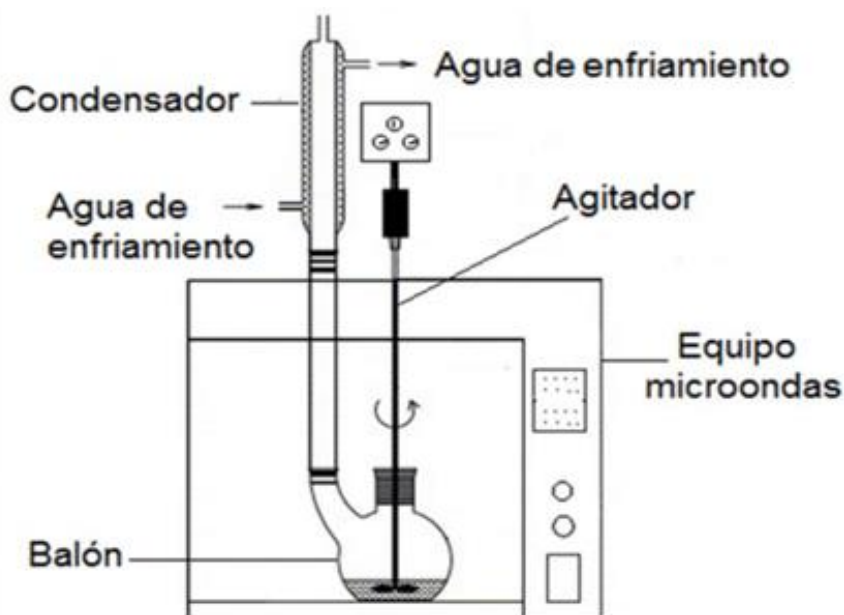
Fuente: Zegada, 2015

1.9.2. Extracción de pectina por hidrólisis ácida asistida por microondas

La extracción asistida por microondas es un método recientemente utilizado con el propósito de liberar la pectina a partir de diversas materias primas y con su utilización se han encontrado resultados bastante deseables en el proceso de extracción de la pectina como la reducción de los tiempos de extracción, altos rendimientos en pectina y buena calidad del producto. Paralelamente a las ventajas de la extracción asistida por microondas, relacionadas al ahorro de energía y tiempo, existen algunos peligros con respecto al efecto de las ondas electromagnéticas en la estructura molecular y las células del material sobre el cual se aplican.

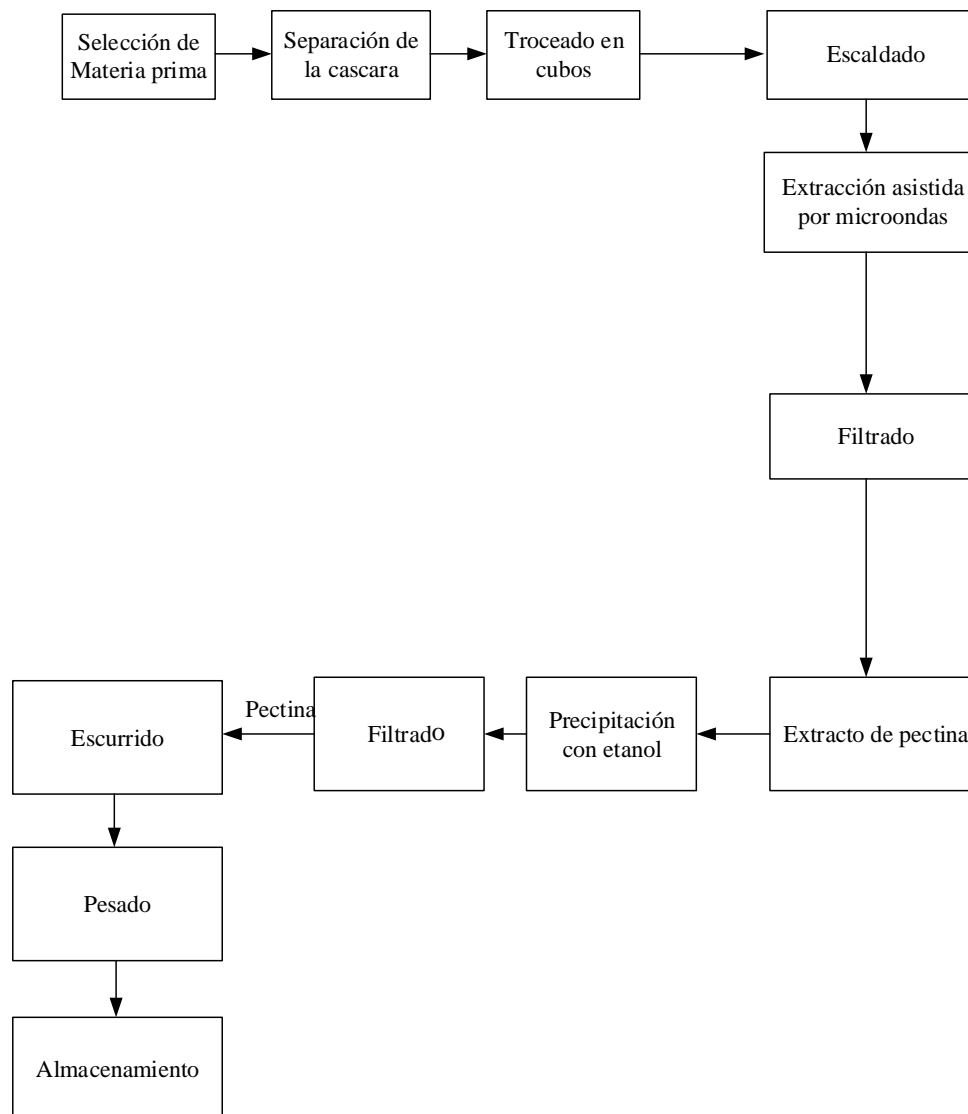
La técnica de extracción asistida por microondas se basa en el uso de la energía de microondas para conseguir que los compuestos de interés pasen rápidamente de la muestra a un disolvente adecuado, además, es una técnica que utiliza volúmenes pequeños de solvente y permite el control de una serie de parámetros que afectan a la eficacia de extracción. (Urango, Ortega, Vélez, & Pérez, 2018)

Figura 1-14 Extracción de pectina por hidrólisis ácida usando microondas



Fuente: Urango, Ortega, Vélez, & Pérez, 2018

Figura 1-15 Diagrama de extracción de pectina por microondas



Fuente: Elaboración propia, 2021

1.9.3. Extracción de pectina a partir de la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación asistida por radiación de microondas

La extracción de los aceites esenciales se lleva a cabo empleando un equipo de destilación, y calentamiento por radiación de microondas. Para ello, las cáscaras, junto con las membranas y las vesículas de jugo remanentes, picadas en trozos, se mezclaron con agua destilada y se procedió a la extracción.

Los subproductos (cáscaras, membranas y vesículas de jugo remanentes) de la extracción de jugos, así como los residuos de la hidrodestilación, pasa por una picadora. Se filtra, y con el residuo repetir la extracción ácida 2 veces más. El último residuo se lava varias veces con agua a ebullición. Al filtrado se agrega un volumen de alcohol comercial, igual al volumen total que se obtiene en las filtraciones anteriores; la mezcla se deja en reposo para precipitar la pectina. Posteriormente se centrifugó, se separa la pectina, se seca, y se cuantifica por gravimetría. Previamente se determina la humedad a cada muestra, para calcular el rendimiento de pectina en base seca.

Ventajas:

- Menor tiempo de extracción.
- Ahorro de energía.
- Control de una serie de parámetros que afectan a la eficacia de extracción.
- Volúmenes pequeños de solvente.

Desventajas:

- Efecto de las ondas electromagnéticas en la estructura molecular y las células del material sobre el cual se aplican.

1.9.4. Extracción enzimática de pectina

Es un método de extracción fisicoquímica de pectina. Existen pocos trabajos sobre extracción enzimática de pectinas. El método enzimático emplea pectin esterasa o pectinmetilesterasa, la cual convierte a las pectinas de alto metoxilo en pectinas de bajo metoxilo sin la despolimerización de la molécula de pectina. (Bravo & Condo, 2015)

La degradación enzimática de cáscaras de frutas se realiza bajo las siguientes condiciones:

Se ponen 80 ml de amortiguador ácido cítrico-citrato de sodio, pH 4.5 en un reactor enchaquetado de mezclador ideal a 40 °C. Luego se agregan 5 microlitro de enzima altamente purificada y posteriormente se agregan 2 g de cáscara. La reacción se debe mantener bajo agitación constante durante 12 h. Al término de la reacción la suspensión se filtra a través de tela muselina. La cáscara que no contiene la pectina es lavada con

agua y deshidratada con solventes orgánicos. La pectina contenida en el jugo péctico se precipitada con dos volúmenes de etanol y separado por filtración. (Galeas, 2015)

1.9.5. Extracción de pectina por métodos fisicoquímicos

Se han empleado dos métodos para extraer la protopectina de las plantas, uno es usando un agente quelante para remover los cationes que constituyen a los ácidos pécticos, y el otro mediante el uso de ácidos para romper los puentes de hidrógeno entre la celulosa y los ácidos pécticos. El rendimiento de pectina también depende de las condiciones de operación como la temperatura, el tiempo de extracción, el pH, los tipos de solventes de extracción usados y el uso de agentes quelantes adicionados, como es el caso del ácido etilendiamina tetraacético (EDTA) y del ácido ciclo hexano diamino tetraacético (CDTA) para ayudar a liberar la pectina de la pared celular. (Bravo & Condo, 2015)

CAPÍTULO II
PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Metodología del estudio

2.1.1. Metodología cualitativa

El presente proyecto utilizó esta metodología para tratar de conocer los procesos, hechos, estructura y el empleo de procedimientos para la extracción experimental de pectina a partir de la cáscara de limón.

2.1.2. Metodología documental

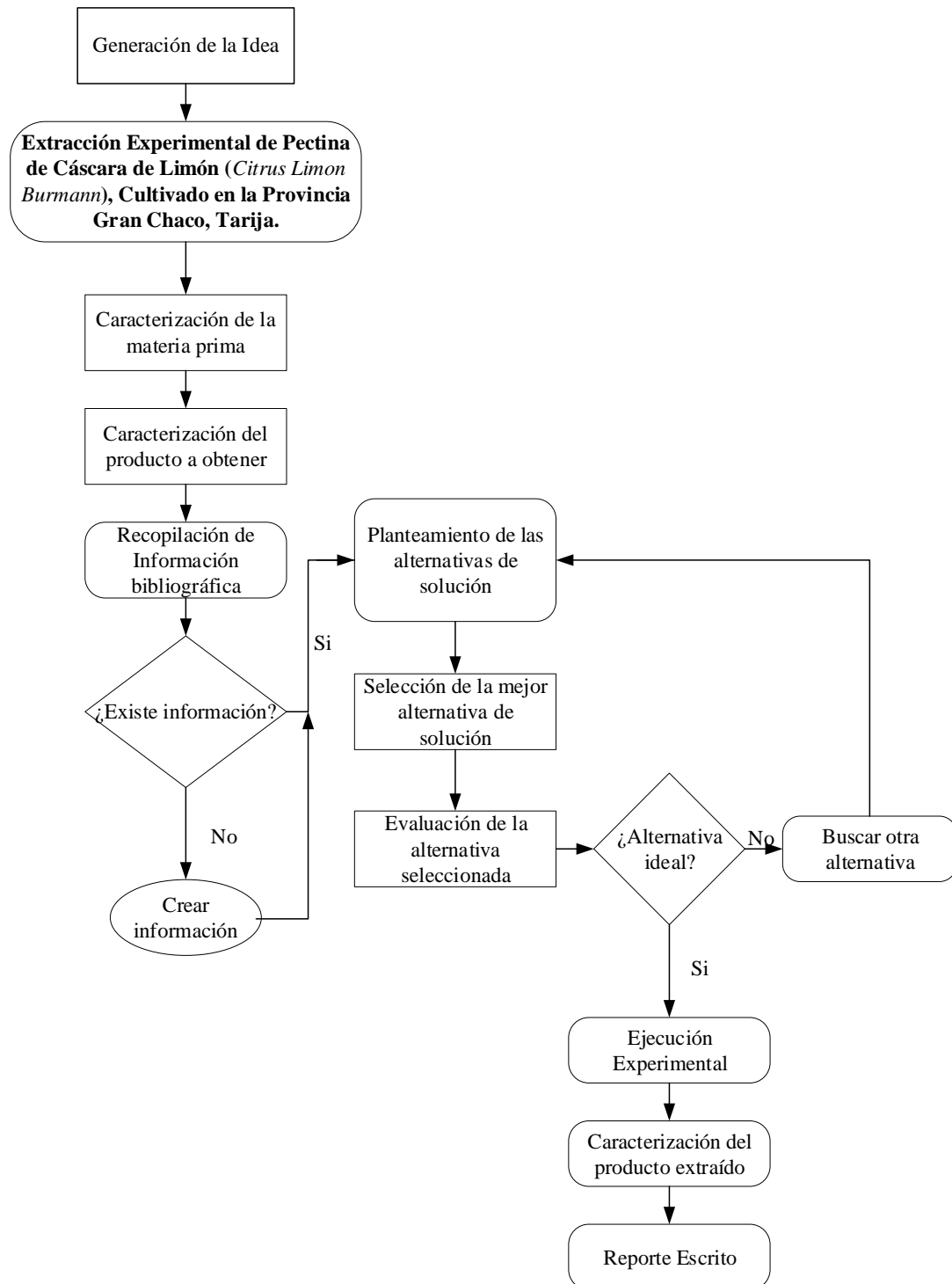
Se realizó la recolección, selección, análisis y presentación de información coherente a partir del uso documentos tales como: revistas científicas, sitios web, tesis, que nos aportó información importante y relevante de proyectos similares con el fin de conocer criterios diferentes sobre la extracción y caracterización de la pectina, y así tener un soporte científico. Como, por ejemplo: Scielo, es una colección de revistas científicas electrónicas para recabar información sobre la obtención de pectina.

2.2. Descripción (esquemática) de la metodología de estudio

Este proyecto consiste en una investigación aplicada para extracción experimental de pectina de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) cultivado en la provincia Gran Chaco, Tarija.

La metodología a aplicar en el estudio, con el fin de lograr los objetivos de la investigación se describe en la figura 2-1.

Figura 2-16 Esquema de la metodología de estudio



Fuente: Elaboración propia, 2020

2.3. Selección del proceso a utilizar

Para la correcta selección del proceso a utilizar para la extracción experimental de pectina de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) se efectuó mediante la realización del método de los factores ponderados. Este método realiza un análisis cuantitativo en el que se compara las diferentes alternativas, asignando un peso relativo a cada factor fundamental del proceso que refleje su importancia relativa fijando una escala de calificación.

De acuerdo a referencias bibliográficas la extracción experimental de pectina se puede llevar a cabo por diferentes métodos como hidrólisis ácida convencional e hidrólisis ácida asistida por microondas.

Las ventajas y desventajas de los dos procesos de extracción de pectina que se tomaron en cuenta, se presentan en el siguiente cuadro II-1:

Cuadro ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1 Ventajas y desventajas

Proceso	Ventajas	Desventajas
Hidrólisis ácida convencional	<ul style="list-style-type: none"> - Disponibilidad del equipo para la etapa de hidrólisis (calentador-agitador magnético). - Proceso ampliamente utilizado por varios autores. - Costo bajo de inversión inicial debido a que se cuenta con todos los equipos necesarios. - Se cuenta con los reactivos a utilizar en el proceso de extracción: HCl y C₂H₄OH al 96 %. - Se cuenta con los materiales necesarios para la extracción de pectina. (Ver tabla II-11) - No genera desechos peligrosos para el medio ambiente y pueden ser reutilizables. - Buen rendimiento del proceso de extracción. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor tiempo de hidrólisis. - Mayor consumo de energía por el uso del calentador y agitador magnético
Hidrólisis ácida asistida por microondas	<ul style="list-style-type: none"> - Menor tiempo de hidrólisis. - Menor consumo de energía. - Se cuenta con los reactivos a utilizar en el proceso de extracción: HCl y C₂H₄OH al 96 %. - No genera desechos peligrosos para los seres vivos y pueden ser reutilizables. - Buen rendimiento del proceso de extracción. 	<ul style="list-style-type: none"> - No se cuenta en el laboratorio con el equipo principal (microondas) para la etapa de hidrólisis. - Acondicionamiento del microondas para la etapa de hidrólisis. - Costo alto de inversión inicial debido a que no se cuenta con un microondas en el laboratorio. - Posible degradación del producto causado por las ondas electromagnéticas debido a la radiación del microondas. - Proceso poco utilizado para la extracción de pectina. - No se cuenta con todos los materiales necesarios para la extracción (agitador, balón de destilación, condensador)

Fuente: Elaboración propia, 2022

En la tabla II-1 se muestran las calificaciones ponderadas siendo el proceso adecuado aquel que acumule el mayor puntaje.

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-6 Escala de calificación del 1 al 10

Escala de calificación	Calificación
Excelente	9 - 10
Muy bueno	7 - 8
Bueno	5 - 6
Regular	3 - 4
Malo	1 - 2

Fuente: Elaboración propia,2021

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-7 Ponderación de los rubros considerados para la extracción de pectina

N°	Factor evaluado	Peso relativo (%)	Ponderación
1	Aplicabilidad del proceso	0.35	35
2	Generación de subproductos con valor económico o de reúso	0.10	10
3	Costo de inversión inicial	0.30	30
4	Requerimiento energético	0.05	5
5	Procesos ampliamente probados	0.05	5
6	Confiableabilidad del proceso	0.1	1
7	Impacto ambiental	0.05	5

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.3.1. Definición y calificación de los rubros considerados en el método de los factores ponderados

Una vez identificado los rubros establecidos para el método de los factores ponderados, se describió cada rubro para los procesos de extracción de pectina por hidrólisis ácida

convencional e hidrólisis asistida por microondas, tal como se muestra en el cuadro II-2:

**Cuadro ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-2
Calificación de los rubros considerados en el método de los factores ponderados**

Factor evaluado	Comentarios del evaluador	Ponderación tabla II-2 del evaluador
Aplicabilidad del proceso	La extracción por hidrólisis ácida convencional se obtiene un producto buena calidad. El tiempo de extracción por hidrólisis ácida asistida por microondas es menor a comparación por hidrólisis ácida convencional, además presenta un menor consumo de energía, se extrae aproximadamente la misma cantidad de pectina en ambos procesos, pero las ondas electromecánicas causadas por él microondas a una potencia de 1 000 W pueden afectar la estructura molecular de la materia prima.	35
Generación de subproductos con valor económico o de reúso	En ambos procesos se separa la pulpa de limón de su cáscara, el cual se puede aprovechar para producir jugo concentrado de limón, o en otro caso vender a empresas que utilizan la pulpa en la elaboración de jugos, néctares, refrescos y demás bebidas de fruta.	10
Costo de inversión inicial	Se requiere un menor costo inicial por hidrólisis ácida convencional debido que se cuenta con todos los equipos necesarios, el proceso mediante hidrólisis por microondas no se cuenta con este equipo en el LOU, además de adquirir debe acondicionarse para el proceso de extracción.	30
Requerimiento energético	Por el proceso convencional consume más energía al usar el calentador eléctrico ya que el tiempo de hidrólisis es mayor que por el proceso asistido por microondas.	5
Procesos ampliamente probados	La extracción de pectina por hidrólisis ácida convencional es un proceso ampliamente utilizado en el mundo, obteniendo buenos resultados la cual se cuenta con bastante bibliografía comparada con la extracción de hidrólisis asistida por microondas.	5
Confiabilidad del proceso	Por el proceso por hidrólisis ácida por microondas pueden presentar una degradación causada por las ondas electromagnéticas por la radiación del microondas al utilizar a una potencia elevada de 1 000 W, pero presentan un menor tiempo de hidrólisis y una mejor apariencia de pectina respecto al hidrólisis ácida convencional.	10
Impacto ambiental	En ambos procesos no generan residuos sólidos considerables, ni ruidos fuertes, ni malos olores, ambos procesos se debe realizar en ambientes adecuados y controlados.	5

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.3.2. Selección del proceso para la extracción experimental de pectina

Por el método de factores ponderados se procedió a calcular la puntuación de los procesos de extracción tomados en cuenta:

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-8 Selección del proceso para la extracción experimental de pectina por método de factores ponderados

Factores	Peso relativo (%)	Alternativas de extracción			
		Nota-Hidrólisis ácida convencional	Ponderado de hidrólisis ácida convencional	Nota-hidrólisis ácida asistida por microondas	Ponderado de hidrólisis ácida asistida por microondas
Aplicabilidad del proceso	0.35	8	2.80	7	2.45
Generación de subproductos	0.10	8	0.80	8	0.80
Costo de inversión inicial	0.30	8	2.40	1	0.30
Requerimiento energético	0.05	7	0.35	8	0.40
Procesos ampliamente probados	0.05	8	0.40	5	0.25
Confiabilidad del proceso	0.10	7	0.70	8	0.80
Impacto ambiental	0.05	9	0.45	9	0.45
Puntuación final		Total	7.90	Total	5.45

Fuente: Elaboración propia, 2021

Se obtuvo la calificación global de cada alternativa:

$$C = \sum W_i * P_i \quad \text{Ec. (2-1)}$$

Donde:

C: calificación global de cada alternativa.

Wi: peso relativo del factor i.

Pi: puntuación del factor i.

La calificación global para cada alternativa se calculó como la suma de las puntuaciones para cada factor ponderado según su peso relativo.

Según resultados de la tabla II-3 presentada se observa que el mejor proceso para la extracción experimental de pectina de cáscara de limón es el método por hidrólisis ácida convencional con una puntuación de **7.90** puntos respecto al método por hidrólisis ácida asistida por microondas. Entonces se decidió: seleccionar y realizar la extracción de pectina por el método de hidrólisis ácida convencional ya que obtuvo el mayor puntaje, además de contar con bastante información sobre este proceso de extracción, es un método ampliamente probado con resultados efectivos y rendimientos aceptables, y se cuenta con las condiciones, equipos y materiales necesarios para la extracción de pectina a partir de la cáscara de limón en el LOU.

2.4. Selección de variables del proceso experimental

2.4.1. pH

Es una variable independiente de la investigación, en medio ácido los valores de pH utilizados para la extracción varían según la materia de la cual se extraen. Por lo tanto, se estudia el efecto del pH en sus dos niveles (pH: 1.5 y pH: 2.5) sobre la variable rendimiento. En general hay una clara tendencia a disminuir el porcentaje de pectina extraída al aumentar el pH.

2.4.2. Tiempo de hidrólisis

Es el tiempo en la etapa de hidrólisis ácido, es también una variable independiente que se estudiará para determinar su efecto en el rendimiento de pectina extraída. Los rangos de tiempo de hidrólisis están en un rango de 60 a 80 min.

2.4.3. Temperatura de hidrólisis

En el presente trabajo de investigación se utilizó un rango de temperatura de extracción entre 60 y 80 °C. Cabe resaltar que la temperatura de la hidrólisis ácida, en investigaciones preliminares, fue una variable de estudio estadísticamente significativa para el rendimiento en la extracción de pectina.

El ácido sometido a altas temperaturas ayuda a solubilizar la pectina y otros componentes pécticos presentes en la pared celular (protopectina), por lo tanto, aumenta el rendimiento. Una baja temperatura puede ser insuficiente para permitir la hidrólisis de la protopectina (la forma insoluble de pectina) por los ácidos, obteniendo así un rendimiento menor de pectina, por lo tanto, al aumentar de temperatura de extracción usando ácido clorhídrico, aumenta significativamente el rendimiento de la pectina.

2.4.4. Variables independientes

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-9 **Selección de las variables independientes del proceso**

N°	Variable	Clase	Unidad
1	Temperatura	Independiente	°C
2	pH	Independiente	H ⁺
3	Tiempo	Independiente	min

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.4.5. Variables dependientes

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-10 **Selección de las variables dependientes del proceso**

N°	Variable	Clase	Dimensión	Unidad
1	Rendimiento	Dependiente	Porcentaje	%

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.5. Diseño experimental

El diseño experimental es una serie de pruebas en las cuales se inducen variables de entrada de un proceso o sistema, de manera que, sean posibles observar, identificar y cuantificar las causas de los cambios en la respuesta de salida.

El diseño de experimentos es fundamental en la investigación científica, donde se manipulan una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés. El diseño experimental prescribe una serie de pautas relativas a qué variables hay que manipular, de qué manera, cuántas veces hay que repetir el experimento y en qué orden para poder establecer con un grado de confianza predefinido la necesidad de una presunta relación de causa-efecto.

2.6. Modelo de diseño factorial

La ecuación de una línea recta es:

$$Y = f_{(X)} = \beta_0 + \beta_1 X \quad \text{Ec. (2-2)}$$

Con: β_0 : ordenada al origen y β_1 : pendiente

En un análisis de regresión lineal simple, el problema es encontrar los valores que mejor estimen a los parámetros β_0 y β_1 a partir de una muestra aleatoria.

La regresión simple hace referencia a una sola variable independiente, mientras que en la regresión múltiple se hace referencia al establecimiento de modelos cuando se consideran dos o más variables independientes

$$Y = f_{(X_1, X_2, \dots, X_k)} = f_{(X)} \quad \text{Ec. (2-3)}$$

2.6.1. Mínimos cuadrados

Al igual que en la regresión lineal simple, se puede trabajar el método de mínimos cuadrados. Para esto:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon_1 \quad \text{Ec. (2-4)}$$

A esta diferencia se le conoce como residual y refleja la desviación de los datos observados con respecto al plano ajustado.

Elevando al cuadrado y sumando los elementos de la ecuación anterior, se llega a la siguiente suma de cuadrados.

Donde el método de mínimos cuadrados consiste, entonces, en encontrar los valores, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots$ llamados estimadores de mínimos cuadrados, para los cuales la suma de cuadrados anterior es mínima. De tal manera que, se pueda construir la siguiente tabla II-6 de ANOVA.

Para las hipótesis:

$H_0: \beta_i = 0$ (todos los coeficientes del modelo de regresión son iguales a cero, es decir, que no hay un modelo lineal).

H_a : Al menos un $\beta_i \neq 0$ (al menos un coeficiente es diferente de cero, lo que implica que si hay modelo).

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-11 ANOVA

Fuente de variación	Grados de libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios (CM)	Fo	r^2
Regresión	k	$SC_{\text{Tot-Error}}$	$\frac{SC_{\text{Reg}}}{k}$	$\frac{CM_{\text{Reg}}}{CM_{\text{Error}}}$	$\frac{SC_{\text{Reg}}}{SC_{\text{Error}}}$
Error o Residual	n-k-1	$\sum_{i=1}^n (Y_1 - \hat{Y}_i)^2$	$\frac{SC_{\text{Error}}}{n - k - 1}$		
Total	n-1	$\sum_{i=1}^n (Y_1 - \bar{Y})^2$			

Fuente: Cervantes & Marques, 2007

Donde:

Y_1 : Valores reales u observados de la variable que intenta explicar el modelo

\hat{Y}_i : Valor medio de la variable Y_1

2.6.2. Coeficiente de correlación y determinación múltiple

$$R_{y/(X_1, X_2, \dots, X_k)} = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})(\hat{Y}_i - \bar{\hat{Y}})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 \sum_{i=1}^n (\hat{Y}_i - \bar{\hat{Y}})^2}} \quad \text{Ec. (2-5)}$$

$$R_{y/(X_1, X_2, \dots, X_k)}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 - \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2} \quad \text{Ec. (2-6)}$$

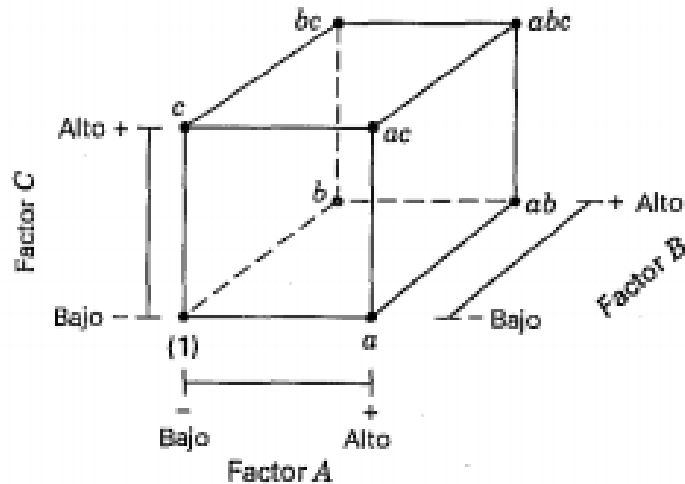
$$R_{y/(X_1, X_2, \dots, X_k)}^2 = \frac{SC_{\text{total}} - SC_{\text{Error}}}{SC_{\text{Total}}} = \frac{SC_{\text{Modelo}}}{SC_{\text{Total}}} \quad \text{Ec. (2-7)}$$

Donde r y r^2 representan la correlación y determinación simple, mientras que R y R^2 se utilizan para la correlación y determinación múltiple. Estos valores se utilizan como una medida de la variación explicada en un modelo de regresión, expresada en porcentaje.

Suponga que tres factores, A, B y C, cada uno con dos niveles, son de interés. Al diseño se le llama diseño factorial 2^3 , y en este caso la representación geométrica de las ocho combinaciones de tratamientos puede hacerse con un cubo. Utilizando la notación "+" y "-" para representar los niveles alto y bajo de los factores, se le conoce en ocasiones como la matriz del diseño. Las combinaciones de los tratamientos en el orden estándar se escriben como, (1), a, b, ab, c, ac, bc y abc.

Hay siete grados de libertad entre las ocho combinaciones de tratamientos del diseño 2^3 . Tres grados de libertad se asocian con los efectos principales de A, B y C. Cuatro grados de libertad se asocian con las interacciones; uno con cada una de las interacciones AB, AC y BC y uno con la interacción ABC.

Figura 2-17 Gráfica de cubos del diseño factorial 2^3



Fuente: Cervantes & Marques, 2007

Se considera la estimación de los efectos principales: Primero, se considera la estimación del efecto principal A. El efecto de A cuando B y C están en el nivel bajo es $[a - 1]/n$. De manera similar, el efecto de A cuando B está en el nivel alto y C está en el nivel bajo es $(ab - b)/n$. El efecto de A cuando C está en el nivel alto y B está en el nivel bajo es $(ac - c)/n$. Por último, el efecto de A cuando tanto B como C están en el nivel alto es $(abc - bc)/n$. Por lo tanto, el efecto promedio de A es sólo el promedio de estos cuatro efectos:

Esta ecuación también puede desarrollarse como un contraste entre las cuatro combinaciones de tratamientos de la cara derecha del cubo (donde A está en el nivel alto) y las cuatro de la cara izquierda (donde A está en el nivel bajo). Es decir, el efecto de A es sólo el promedio de las cuatro corridas donde A está en el nivel alto (\bar{y}_{A+}) menos el promedio de las cuatro corridas donde A está en el nivel bajo (\bar{y}_{A-}).

2.6.3. Codificación

Para representar los niveles de un factor es importante “pasar” los valores originales a + o -, así como en la interpretación o toma de decisiones regresar de esta notación a las unidades originales. Para lo cual se utiliza la siguiente expresión.

$$X_i^* = \frac{2X_i - (X_{\text{BAJO}} + X_{\text{ALTO}})}{X_{\text{ALTO}} - X_{\text{BAJO}}} \quad \text{Ec. (2-8)}$$

Donde X_i es el valor a codificar, mientras que X_{alto} y X_{bajo} , corresponden a los valores del factor que se desea codificar, aquí X^* corresponde al valor codificado (-1 o +1), para regresar de unidades codificadas a valores originales se debe despejar, de esta misma expresión, el valor de X_i .

2.6.4. Coeficientes del modelo

Estos valores conducen a los coeficientes del polinomio de ajuste:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad \text{Ec. (2-9)}$$

2.6.5. Sumas de cuadrados

La suma de cuadrados, en un diseño 2^3 , se obtiene mediante el cálculo de los siguientes contrastes. Cuya notación donde n es el número de repeticiones, con “ n ” mayor o igual a 1.

$$A = \frac{1}{4n} [a - (1) + ab - b + ac - c + abc - bc] \quad \text{Ec. (2-10)}$$

$$B = \frac{1}{4n} [b + ab + bc + abc - (1) - a - c - ac] \quad \text{Ec. (2-11)}$$

$$C = \frac{1}{4n} [c + ac + bc + abc - (1) - a - b - ab] \quad \text{Ec. (2-12)}$$

$$AB = \frac{1}{4n} [abc - bc + ab - b - ac + c - a + (1)] = \frac{abc+ab+c+(1)}{4n} - \frac{bc+b+ac+a}{4n} \quad \text{Ec. (2-13)}$$

Se representa la interacción AB de esta forma permite ver que esta es la diferencia de los promedios entre las corridas de dos planos diagonales del cubo.

$$AC = \frac{1}{4n} [(1) - a + b - ab - c + ac - bc + abc] \quad \text{Ec. (2-14)}$$

$$BC = \frac{1}{4n} [(1) + a - b - ab - c - ac + bc + abc] \quad \text{Ec. (2-15)}$$

$$ABC = \frac{1}{4n} [abc - bc - ac + c - ab + b + a - (1)] \quad \text{Ec. (2-16)}$$

Después de calcular los contrastes, la suma de cuadrados se obtiene por la ecuación: $(\text{Contraste})^2/8n$, por ejemplo, la suma de cuadrados de A se obtiene al elevar al

cuadrado el resultado del contraste y dividir entre $8n$. Es importante notar que cada factor o interacción presenta sólo un grado de libertad y que los grados de libertad del error es la resta de los grados de libertad total menos la suma de todos los demás grados de libertad.

Con esta información, el siguiente paso consiste en elaborar la tabla de Análisis de Varianza.

2.6.6. Usando las sumas de cuadrados

La suma de cuadrados es útil para obtener las siguientes medidas:

$$F_0 = \frac{\text{Cuadrado medio Modelo}}{\text{Cuadrado medio Error}} \quad \text{Ec. (2-17)}$$

Para probar la hipótesis:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_{12} = \beta_{13} = \beta_{23} = \beta_{123} = 0 \text{ (No hay modelo)} \quad \text{Ec. (2-18)}$$

H_a : Al menos una beta diferente de cero (Si hay modelo)

$$R^2 = \frac{\text{Suma Cuadrados Modelo}}{\text{Suma Cuadrados Total}} \quad \text{Ec. (2-19)}$$

El error estándar de cada coeficiente de regresión, está definido por la expresión:

$$e.e(\hat{\beta}) = \sqrt{V(\hat{\beta})} = \sqrt{\frac{\text{Cuadrado medio del Error}}{n2^k}} \quad \text{Ec. (2-20)}$$

El diseño factorial del presente estudio para la extracción experimental de pectina a partir de la cáscara de limón pertenece al modelo 2^k , donde k corresponde al número de factores que intervienen en el proceso y 2 son los niveles.

$$\text{Modelo de diseño factorial} = 2^k$$

$$\text{N}^\circ \text{ variables} = 3$$

$$\text{Subniveles} = 2$$

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos} = 2^3 = 8$$

2.7. Dominio experimental

Existen varios factores que pueden afectar en mayor o menor proporción al proceso de obtención de pectina, entre ellos se encuentran: temperatura de hidrólisis, pH y el tiempo de hidrólisis que puede condicionar o afectar el rendimiento del proceso de extracción y sus características fisicoquímicas del producto.

A continuación, se muestra el dominio experimental con los valores mínimos y máximos de las variables independientes en la siguiente tabla:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-12 **Variables y dominio experimental para la extracción experimental de pectina**

Factores	Unidad de medida	Dominio Experimental	
		Nivel min.	Nivel máx.
Temperatura	Grados Celsius (°C)	60	80
pH	Concentración (H ⁺)	1.5	2.5
Tiempo de hidrólisis	Tiempo (min)	60	80

Fuente: Elaboración propia, 2021

El dominio experimental de una variable continua se expresa con los valores mínimos y máximos que puede tomar, y se le asigna la notación codificada: (-) nivel mínimo, (+) nivel máximo.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-13 **Codificación de variables**

FACTORES	NIVELES	
	Min	Max
A= temperatura (°C)	-	+
B= pH	-	+
C= tiempo de hidrólisis (min)	-	+

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.7.1. Matriz de experimentos para el diseño factorial completo 2³

Para conocer los efectos de un factor se varía los extremos de su dominio experimental realizando cada posible combinación de los valores de los factores. Todas estas combinaciones están contempladas en la tabla II-9. En total se pueden realizar ocho combinaciones posibles que son las siguientes:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-14 **Matriz de experimentos para la extracción experimental de pectina**

Prueba	Matriz de Experimentos			Plan de experimentación		
	Variable A	Variable B	Variable C	Temperatura (°C)	pH (H ⁺)	Tiempo (min)
1	-	-	-	60	1.5	60
2	+	-	-	80	1.5	60
3	-	+	-	60	2.5	60
4	+	+	-	80	2.5	60
5	-	-	+	60	1.5	80
6	+	-	+	80	1.5	80
7	-	+	+	60	2.5	80
8	+	+	+	80	2.5	80

Fuente: Elaboración propia, 2021

A partir de este punto, se realizó una codificación a las muestras para la extracción experimental de pectina a partir de cáscara de limón de acuerdo a la tabla II-10.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-15 **Codificación de los experimentos del proceso de extracción de pectina**

Muestra	Factor A	Factor B	Factor C	Respuesta
CT60pH1.5t60	60	1.5	60	Y ₁
CT80pH1.5t60	80	1.5	60	Y ₂
CT60pH2.5t60	60	2.5	60	Y ₃
CT80pH2.5t60	80	2.5	60	Y ₄
CT60pH1.5t80	60	1.5	80	Y ₅
CT80pH1.5t80	80	1.5	80	Y ₆
CT60pH2.5t80	60	2.5	80	Y ₇
CT80pH2.5t80	80	2.5	80	Y ₈

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.8. Equipos, materiales y reactivos necesarios

2.8.1. Equipos

Los equipos empleados durante el desarrollo de la parte experimental para la extracción de la pectina se mencionan a continuación, además de sus especificaciones en el (Anexo 3).

- Balanza analítica.
- Calentador-agitador magnético.
- pH-metro.
- Secador a bandeja.
- Bomba de vacío.
- Viscosímetro.

2.8.2. Materiales de laboratorio

Se utilizaron diferentes materiales los cuales son necesarios para la extracción experimental de la pectina, tal como se visualiza en tabla II-11:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-16
Descripción de materiales utilizados

Material	Tipo	Capacidad/Tamaño	Cantidad
Vasos de precipitado	Vidrio borosilicato	1 000 ml, 600 ml, 250 ml.	6
Probetas	Vidrio borosilicato	100 ml, 25 ml	2
Probeta	Plástico	250 ml	1
Embudo Büchner	Porcelana	Grande, mediano	2
Vidrio reloj	Vidrio pyrex	Grande	2
Espátula	Metal	Mediana	1
Matraz Erlenmeyer	Vidrio borosilicato	250 ml	1
Matraz Kitasato	Vidrio borosilicato	1000 ml	1
Caja Petri	Vidrio borosilicato	100 mm	2

Varilla	Vidrio pyrex	Mediano	1
Mortero	Porcelana	Mediano	1
Cuchillo	Acero inoxidable	Mediano	1
Bureta	Vidrio borosilicato	50 ml	1
Termómetro	-----	-10 a 100 °C	1
Papel filtro	-----	Pequeño, mediano	105
Frasco lavador	Plástico	1 000 ml	1
Frasco ámbar	Plástico	500 ml	4

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.8.3. Reactivos empleados

Los reactivos que se emplearon para la extracción experimental de pectina son los siguientes:

- Ácido clorhídrico 1 N.
- Etanol al 96 %.
- Agua destilada.

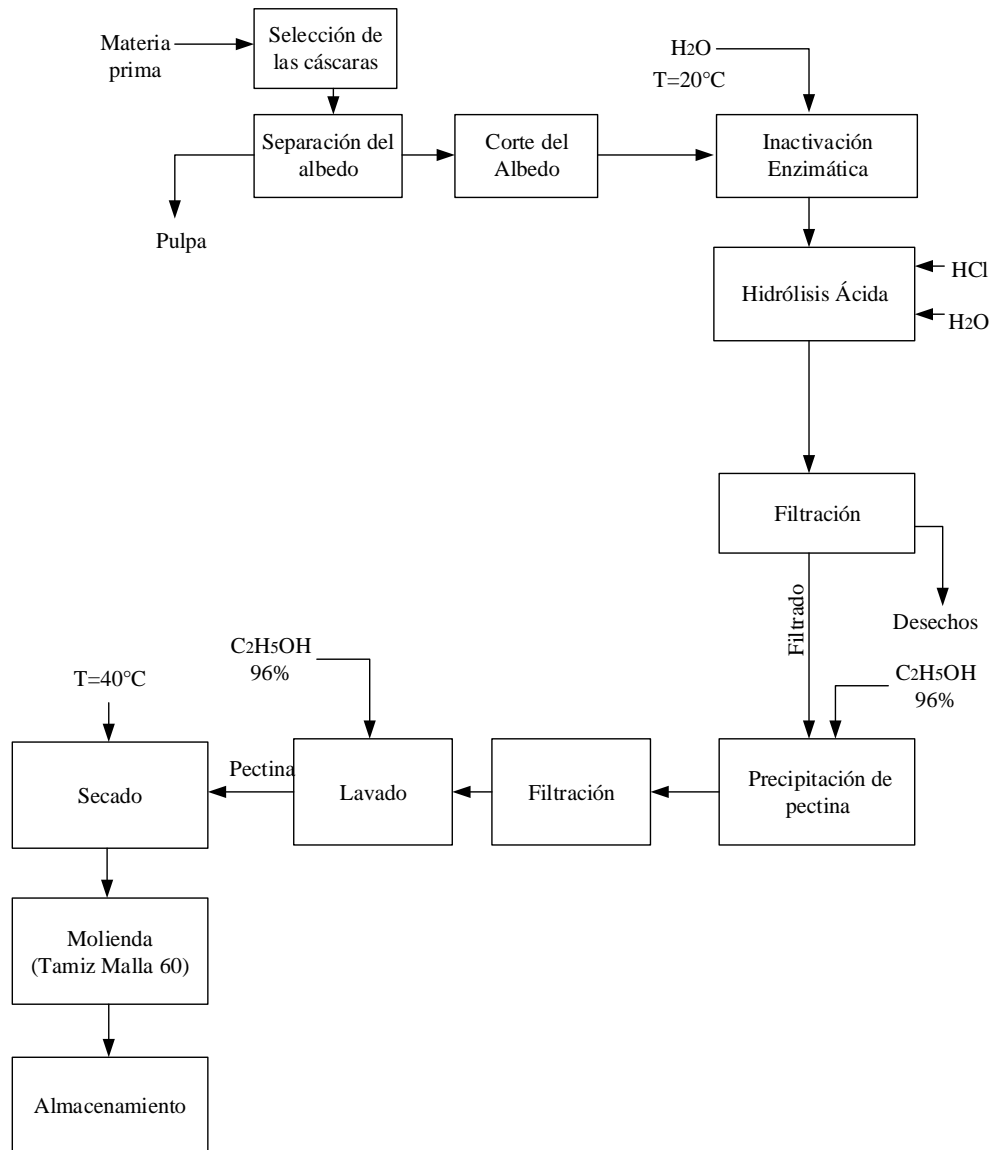
Los reactivos que se emplearon para la caracterización fisicoquímica de la pectina son los siguientes:

- Indicador rojo de fenol.
- Hidróxido de sodio 0.25 N.
- Hidróxido de sodio 0.1 N.
- Ácido clorhídrico 0.25 N.

2.9. Descripción del proceso seleccionado

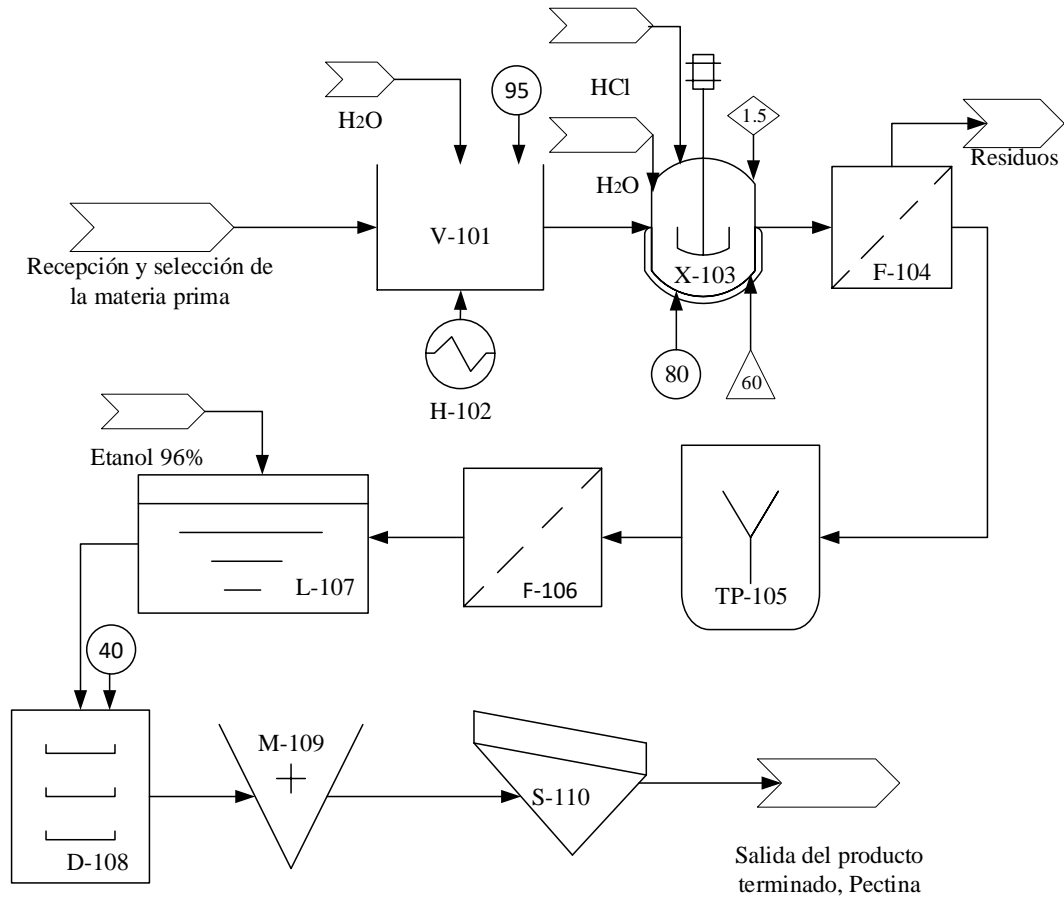
El proceso que se utilizó para la extracción experimental de pectina de cáscara de limón por el método de hidrólisis ácida convencional se muestra en las siguientes figuras:

Figura 2-18 Diagrama de bloques del proceso de extracción de pectina cítrica



Fuente: Elaboración propia, 2021

Figura 2-19 Diagrama de flujo del proceso de extracción de pectina cítrica



○	Temperatura (°C)
◇	Concentración (H ⁺)
△	Tiempo (min)

Fuente: Elaboración propia, 2021

**Cuadro ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-3
Simbología de los equipos para la extracción experimental de pectina cítrica**

V-101	H-102	X-103	F-104	TP-105
Recipiente para Inactivación Enzimática	Calentador	Hidrólisis	Filtración	Precipitación
F-106	L-107	D-108	M-109	S-110
Filtración	Recipiente de lavado	Secador	Trituradora	Tamizado

Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10. Descripción y análisis de la materia prima

La materia prima que se utilizó en el presente proyecto de investigación, es la cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) procedente de la provincia Gran Chaco del departamento de Tarija.

La caracterización fisicoquímica de la materia prima se determinó mediante los análisis que se realizaron en el laboratorio del Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) en el departamento de Tarija.

Los parámetros que se determinaron del albedo que es la parte blanca perteneciente a la cáscara de limón, proveniente del municipio de Caraparí, fueron los siguientes:

- Determinación porcentual de cenizas.
- Determinación porcentual de humedad.
- Determinación de pH.
- Determinación de °Brix de sólidos solubles.

2.10.1. Recepción de la materia prima

La materia prima se obtuvo directamente de los productores de limón, la procedencia de la materia prima es del municipio de Caraparí, de la provincia Gran Chaco perteneciente al departamento de Tarija.

2.10.2. Selección y lavado de la materia prima

Para la selección del fruto se tiene en cuenta criterios como el costo del fruto, tamaño y madurez. La selección de limón se realizó para escoger aquellas que se encuentran en buen estado sin presentar signos de descomposición, daño o alteración.

El proceso de lavado se realizó para eliminar algunas impurezas que pueden estar presentes en el fruto, y se realiza utilizando agua potable.

Fotografía N° 2-1 Limón



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.3. Separación del albedo

Una vez escogidos los limones que presentan un estado óptimo, se separó manualmente el flavedo y luego se separó la pulpa restante del albedo, que es la parte blanca entre la cáscara y la pulpa como se muestra en la fotografía:

Fotografía N° 2-2 Separación del albedo

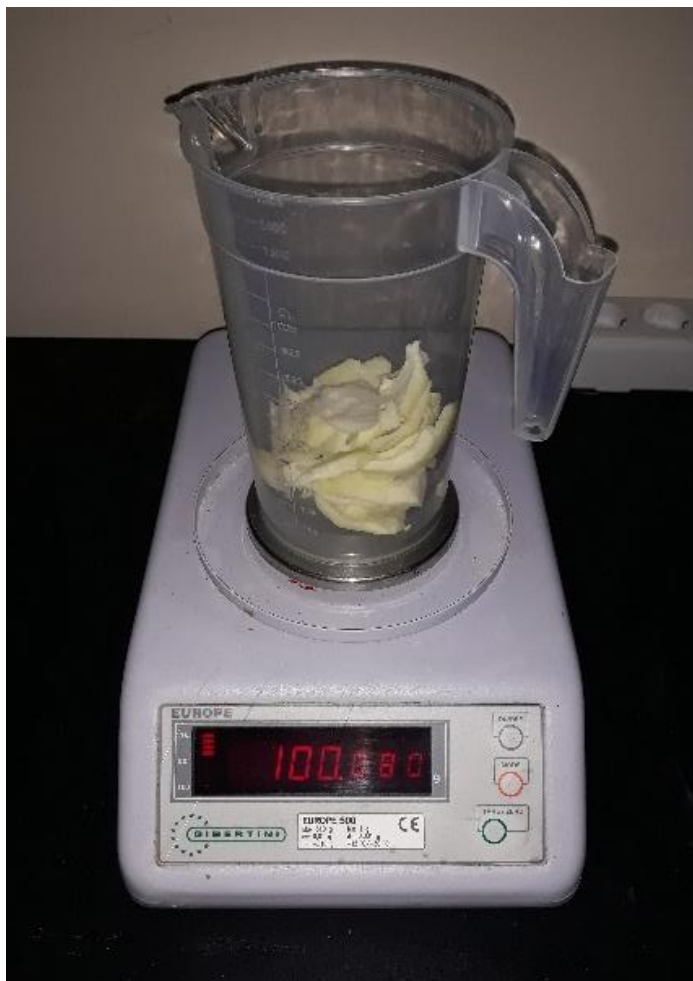


Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.4. Pesado del albedo

Posteriormente de que se separó el albedo de la pulpa se procedió a tarar la balanza y luego se pesó 100 g del albedo.

Fotografía N° 2-3 Pesado del albedo



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.5. Cortado del albedo

Para aumentar el área superficial de contacto se redujo el tamaño de los pedazos del albedo resultante en trozos pequeños, que se usó en el proceso de extracción como se muestra a continuación:

Fotografía N° 2-4 Cortado del albedo



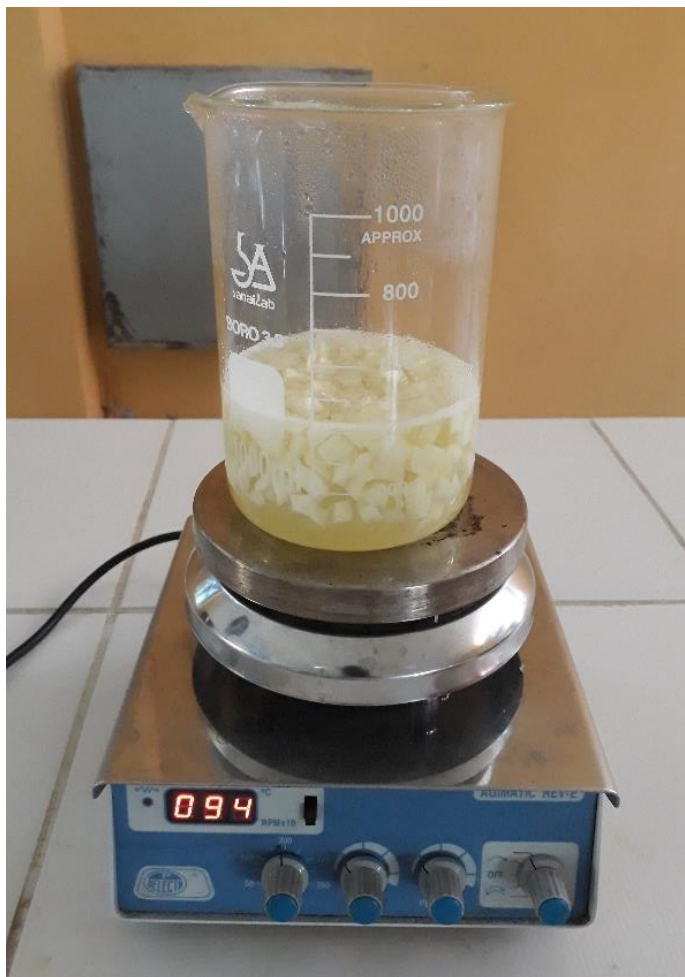
Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.6. Inactivación enzimática

Con el propósito de hacer más eficiente el proceso de extracción es necesario inactivar las enzimas pécticas, para ello, se sumergió la cáscara de limón (albedo) en agua destilada, con concentraciones de 100 g de cáscara por 400 ml de agua (1:4) y se calentó hasta ebullición (92 – 95 °C) durante 20 min. Esto contribuye a eliminar suciedades o microorganismos presentes en la cáscara. Al finalizar esta etapa se decantó el agua de la materia prima.

La inactivación enzimática es una operación crítica en el proceso de acondicionamiento de la materia prima. Se realiza con la finalidad de inactivar las enzimas pectín esterases que catalizan la reacción de desmetoxilación formando metanol y pectinas de bajo metoxilo.

Fotografía N° 2-5 Inactivación enzimática del albedo



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.7. Hidrólisis ácida

En un vaso de precipitado de 1 000 ml se agregó la misma cantidad de agua usada en la etapa de inactivación enzimática y para hidrolizar la protopectina se añadió ácido clorhídrico HCl 1 N hasta obtener un pH de 1.5 y 2.5, el cual se midió usando un pH-metro como se muestra en la siguiente fotografía:

Fotografía N° 2-6 Ajuste de pH

Fuente: Elaboración propia, 2021

A esta solución se le agregó la cáscara de limón, luego se sometió a un calentamiento en un calentador-agitador magnético hasta alcanzar la temperatura de proceso: 60 – 80 °C, que debe mantenerse constante y un tiempo de hidrólisis (60 - 80 min).

La mezcla se agita constantemente con la ayuda de una barra magnética para evitar que el albedo se deposite en la parte inferior de recipiente de hidrólisis.

Fotografía N° 2-7 Hidrólisis ácida



Fuente: Elaboración propia, 2021

Al terminar el tiempo de hidrólisis, la mezcla se enfrió a 25 °C utilizando agua fría en un recipiente para evitar la degradación térmica de la pectina.

2.10.8. Primera filtración

Una vez finalizado la etapa de hidrólisis ácida, se filtró la solución con la ayuda de papel de filtro, se realiza esta etapa, utilizando un Kitasato con un embudo Büchner conectado a una bomba de vacío.

Fotografía N° 2-8 Filtrado al vacío de la solución hidrolizada

Fuente: Elaboración propia, 2021

Con la ayuda de un sistema de filtración al vacío, se separa el material sólido (albedo) de la solución hidrolizada (fase líquida) que contiene la pectina extraída para luego ser precipitada con etanol al 96 %.

Fotografía N° 2-9 Solución hidrolizada filtrada

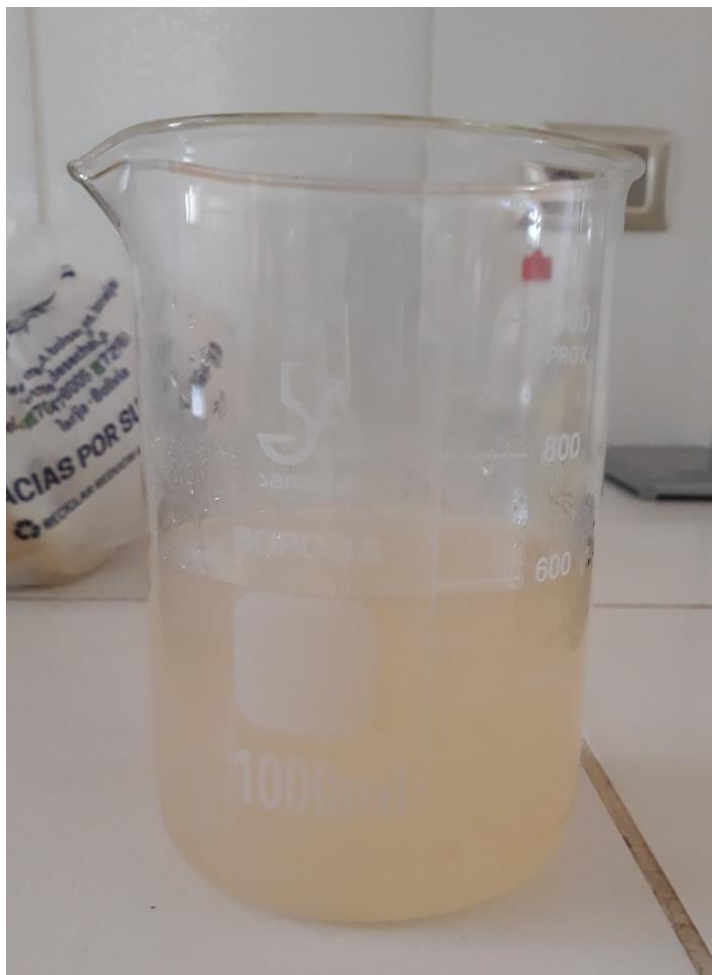


Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.9. Precipitación

Se precipitó la solución hidrolizada con etanol (C_2H_5OH) al 96 %, se usó un volumen de alcohol equivalente al 80 % de la solución que se va a precipitar. Al añadir el C_2H_5OH se empieza a formar gradualmente una masa gelatinosa en la solución, el cual se dejó reposar la solución durante 15 h a temperatura ambiente.

Fotografía N° 2-10 Precipitación de pectina con etanol



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.10. Segunda filtración y lavado

Se filtró la solución precipitada con la ayuda de un matraz Kitasato con un embudo Büchner conectado a una bomba de vacío.

En el proceso de filtrado se separó la pectina que está en forma de gel de la solución líquida, posteriormente, se procedió al lavado de la pectina con C_2H_5OH al 96 % para mejorar el aspecto final de la pectina ya que esto permite separar las sustancias de las cenizas, los colorantes y otras sustancias amargas.

Fotografía N° 2-11 Filtrado y lavado de la pectina extraída

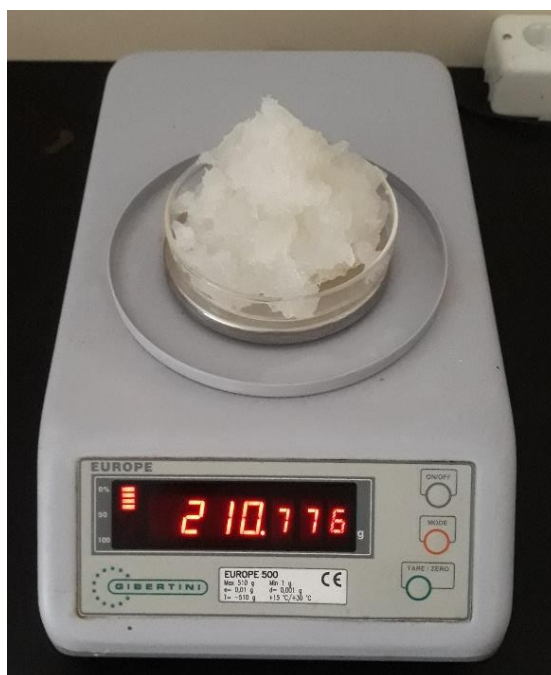


Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.11. Pesado de pectina húmeda

Se procedió a pesar la pectina húmeda extraída de la cáscara de limón como se muestra a continuación:

Fotografía N° 2-12 Pesado de la pectina húmeda



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.12. Secado

El proceso de secado de la pectina húmeda se realizó en un secador de bandeja a una temperatura constante aproximadamente de 40 ± 2 °C, al secar se observó que el color de la pectina se oscurece.

Fotografía N° 2-13 Secado de la pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

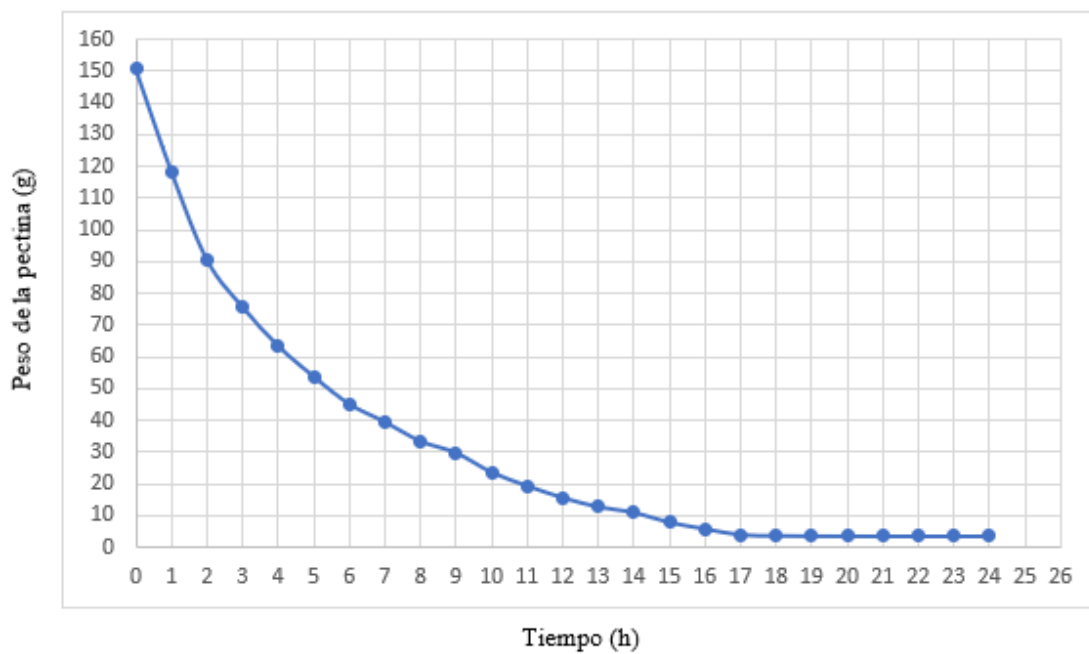
Se construyó una curva de secado de la pectina húmeda, en el cual se registra el peso en intervalos de una hora hasta obtener un peso constante del producto. En la tabla II-12 se detallan los datos de la pérdida de peso de la pectina extraída en el proceso de secado a temperatura constante.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-17 **Datos de pérdida de peso en función del tiempo a temperatura constante de 40 ± 2 °C**

Tiempo (h)	Peso de la pectina (g)
0	150.720
1	118.410
2	90.632
3	75.770
4	63.540
5	53.848
6	45.211
7	39.578
8	33.487
9	29.824
10	23.684
11	19.401
12	15..670
13	12.764
14	10.976
15	7.868
16	5.827
17	3.943
18	3.645
19	3.542
20	3.510
21	3.490
22	3.483
23	3.480
24	3.480

Fuente: Elaboración propia, 2021

Figura 2-20 Curva de secado de la pectina a temperatura constante de $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.13. Molienda de la pectina

Para reducir el tamaño se empleó un mortero para triturar la pectina seca y así obtener un producto en polvo fino con una mejor apariencia.

Fotografía N° 2-14 Molienda de la pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.14. Tamizado

Para homogenizar el tamaño del polvo de pectina obtenido se colocó en un tamizador de diferente abertura de malla. La pectina debe pasar a través de la malla N°60 ASTM, y así obtener un producto homogenizado.

Fotografía N° 2-15 Tamizado de la pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.10.15. Almacenamiento

La pectina molida y tamizada se pesó, y se almacenó en bolsas de polietileno de alta densidad en un lugar seco a una temperatura de 20 – 22 °C para evitar la contaminación y modificaciones en su apariencia y en su calidad. Luego se realizó su caracterización fisicoquímica del producto obtenido.

Fotografía N° 2-16 Envasado de pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

El mayor rendimiento que se obtuvo en el proceso de extracción de pectina fue con un pH de 1.5, a una temperatura de hidrólisis de 80 °C y con un tiempo de hidrólisis de 60 min.

2.11. Descripción y caracterización fisicoquímica de la pectina extraída

2.11.1. Determinación del peso equivalente y acidez libre

Se pesó 0.5 g de la pectina obtenida y se lo colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se agregó 5 ml de C_2H_5OH al 96 %, luego se agregó 100 ml de agua destilada y se añadió a la solución 6 gotas del indicador rojo de fenol. Se agitó, posteriormente se tituló con NaOH 0.1 N hasta viraje de color amarillo a rosa.

Fotografía N° 2-17 Determinación del peso equivalente y acidez libre



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.11.2. Determinación de porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido anhídrido galacturónico

Se utilizó la solución para la determinación de peso equivalente y acidez libre, se adicionó 25 ml de NaOH 0.25 N y se dejó reposar durante 30 min a temperatura ambiente y luego se añadió 25 ml de HCl 0.25 N.

Se agitó la solución, posteriormente se tituló con NaOH 0.1 N hasta el viraje de amarillo a rojizo de la solución por 20 s.

Fotografía N° 2-18 Determinación de porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y porcentaje de ácido anhídrido galacturónico



Fuente: Elaboración propia, 2021

2.11.3. Grado de gelificación

Se preparó cuatro soluciones de pectina en vasos de precipitado de 250 ml, con peso de 0.4; 0.7; 1.0; 1.4 g de pectina. Se adicionó 50 ml de agua destilada a cada vaso de precipitado y se calentó hasta la disolución de la pectina, después se agregó 100 g de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) a cada solución, se calentó y se agitó hasta su completa disolución.

Se añadió agua destilada hasta tener un peso de 150 g en cada vaso, finalmente se adicionó ácido cítrico hasta obtener un pH (3.2 – 3.5), estos geles se dejan reposar por 24 h y luego se procedió a evaluar las características de cada gel midiendo su viscosidad a 60 °C con un viscosímetro rotacional.

Fotografía N° 2-19 Grado de gelificación

Fuente: Elaboración propia, 2021

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.1. Presentación de los resultados de la caracterización de la cáscara de limón

El análisis de la materia prima (albedo) para el desarrollo experimental del presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) de la UAJMS, en la tabla III-1 se muestra resultados que se obtuvo. (Anexo 4)

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-18
Caracterización fisicoquímica de la cáscara de limón

Parámetro	Unidad	Resultado
Ceniza	%	0.69
Humedad	%	81.19
pH (20 °C)	H ⁺	5.6
Sólidos Solubles	°Brix	9
% Porcentaje (m/m)		

Fuente: CEANID, 2021

3.2. Presentación de los resultados de producto extraído

3.2.1. Resultados de rendimiento del proceso

De acuerdo al diseño factorial, se procedió a extraer la pectina de la cáscara de limón con 100 g de materia prima, a una temperatura de 60 y 80 °C, con un pH de 1.5 y 2.5 y con un tiempo de hidrólisis de 60 y 80 min. A los experimentos realizados se determinó el porcentaje de rendimiento y con estos resultados se determinaron los parámetros óptimos para el proceso de extracción.

Para determinar el rendimiento del proceso de extracción de pectina a partir de la cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) se basa en la relación entre la cantidad de pectina extraída como producto final y la cantidad de materia prima utilizada para la extracción.

Tabla 3.1. Resultados de rendimiento de la pectina extraída

N°	Muestra	Réplica 1 (% m/m)	Réplica 2 (% m/m)	Promedio
1	CT60pH1.5t60	2.654	2.487	2.571
2	CT80pH1.5t60	3.320	3.024	3.172
3	CT60pH2.5t60	1.386	1.457	1.422
4	CT80pH2.5t60	1.877	1.645	1.761
5	CT60pH1.5t80	2.153	2.211	2.182
6	CT80pH1.5t80	2.794	2.547	2.671
7	CT60pH2.5t80	1.476	1.735	1.606
8	CT80pH2.5t80	1.759	1.854	1.807

Fuente: Elaboración propia, 2021

Según los resultados obtenidos, los parámetros óptimos para la extracción de pectina a partir de la cáscara de limón son del experimento 2, el cual se realizó a una temperatura de hidrólisis de 80 °C, con un pH de 1.5 y un tiempo de hidrólisis de 60 min, el cual presento un mayor rendimiento cuyo promedio es de 3.172 % m/m.

3.2.2. Presentación de los resultados de la caracterización fisicoquímica de la pectina extraída

La tabla III-2 testifica que la muestra CT80pH1.5t60 tiene el mayor promedio de rendimiento, aplicando los parámetros del experimento el cual se realiza a una temperatura de 80 °C, con un pH de 1.5 y un tiempo de hidrólisis de 60 min, el cual presenta un rendimiento promedio de 3.172 %.

3.2.2.1. Resultados de pH, cenizas y humedad.

Con los parámetros que se indica en la muestra CT80pH1.5t60, con los cuales se obtiene un mayor rendimiento, se extrae pectina para la realización de la caracterización fisicoquímica en el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) de la UAJMS en la tabla III-3 se muestra el detalle de los resultados. (Anexo 5)

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-20
Caracterización fisicoquímica de la pectina extraída

Parámetro	Unidad	Resultado
Ceniza	%	1.72
Humedad	%	2.59
pH (20 °C)	H ⁺	3.44

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.2.2.2. Resultados de acidez libre y peso equivalente

Para la determinación de acidez libre y peso equivalente se realizó ensayos por triplicado, en el cual se gastó un promedio de 0.413 miliequivalentes de NaOH (4.13 ml). En la tabla III-4 se exponen los resultados del análisis de acidez libre y peso equivalente de la pectina extraída, los cuales son determinados mediante titulación ácido-base.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-21
Resultados del análisis de acidez libre y peso equivalente

Muestra CT80pH1.5t60	Miliequivalentes NaOH gastados	Acidez libre (meq NaOH/g pectina)	Peso equivalente (mg pectina/meq NaOH)
Réplica 1	0.420	0.840	1 190.476
Réplica 2	0.410	0.820	1 219.510
Réplica 3	0.410	0.820	1 219.510
Promedio	0.413	0.827	1 209.832

Fuente: Elaboración propia, 2021

La pectina extraída presentó un valor promedio de 0.827 meq NaOH/g pectina de acidez libre. Este valor es mayor al obtenido por (Súarez & Orozco, 2014) quienes usaron cascarilla de cacao como materia prima para la extracción de pectina. Pero es menor al valor obtenido por el estudio realizado por (Cabarcas , Guerra, & Henao, 2012) en la extracción de pectina a partir de cáscara de plátano.

El valor promedio de peso equivalente que se obtiene es de 1 209.832 mg pectina/ meq NaOH, el cual representa los carboxilos libres en la cadena lineal de la pectina. Este

valor es menor al obtenido por (Súarez & Orozco, 2014), pero es mayor al valor obtenido por (Cabarcas, Guerra, & Henao, 2012), cómo se describe en la tabla III-5.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**22** **Tabla comparativa de la pectina extraída con otros autores**

Parámetros	Pectina extraída	Pectina por Suarez y Orozco	Pectina por Cabarcas
Acidez libre (meq NaOH/g pectina)	0.827	0.426	1.77
Peso equivalente (mg pectina/meq NaOH)	1 209.832	2 334.84	536.36

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.2.2.3. Resultados del porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido anhídrido galacturónico

Para la determinación del porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido anhídrido galacturónico se realizó ensayos por triplicado, en el cual se gastó un promedio 1.817 miliequivalentes de NaOH (18.17 ml). En la tabla III-6 se muestran los resultados del análisis del porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido anhídrido galacturónico de la pectina extraída, los cuales son determinados mediante titulación ácido-base.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**23** **Resultados del análisis de porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido anhídrido galacturónico**

Muestra CT80pH1.5t60	Miliequivalentes NaOH gastados	Contenido de metoxilo (%)	Grado de esterificación (%)	Ácido anhídrido galacturónico (%)
Réplica 1	1.830	11.346	80.970	71.630
Réplica 2	1.810	11.222	81.530	71.800
Réplica 3	1.810	11.222	81.530	71.800
Promedio	1.817	11.263	81.343	71.743

Fuente: Elaboración propia, 2021

Se obtiene un porcentaje de metoxilo de 11.263 %, lo grupos carboxilos de una cadena de pectina se encuentran parcialmente esterificados por radicales metoxilos (-O-CH₃), su importancia radica en su relación con la propiedad más importante de formar geles.

El grado de esterificación se obtiene un valor promedio de 81.343 %, se refiere al porcentaje de grupos carboxilo que son esterificados con metanol.

El porcentaje de ácido anhídrido galacturónico permite conocer el grado de pureza de la pectina extraída, este parámetro es muy importante ya que representa la calidad de la pectina, el valor promedio que se obtiene es de 71.743 % el cual indica que se obtiene una pectina de pureza media-alta, el resto de la cadena lineal del polisacárido pueden representar otros azúcares tales como arabinosa, glucosa, ramnosa, y otras impurezas como cenizas.

En la tabla III-7 se realiza la comparación del resultado obtenido con los resultados de otras investigaciones tales como de Suarez Orozco y Cabarcas.

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**24 Tabla comparativa de la pectina extraída con otros autores**

Parámetros	Pectina extraída	Pectina por Suarez y Orozco	Pectina por Cabarcas
Metoxilo (%)	11.263	3.400	4.609
Grado de esterificación (%)	81.343	26.840	88.543
Ácido anhídrido galacturónico (%)	71.743	71.880	-

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.2.2.4. Resultados de grado de gelificación

El gel que presentó las características más apropiadas es la muestra M₃ se presenta mejores resultados de gelificación (mayor rapidez y consistencia) lo cual se demuestra una gelificación rápida, es decir, menor a 5 min. Por lo tanto, el grado de gelificación de la pectina extraída es de 100 °SAG. Como se muestra en la tabla III-8.

**Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-25
Resultados del análisis de grado de gelificación y viscosidad de la pectina
extraída**

Muestra	Pectina (g)	Grado de gelificación (°SAG)	Viscosidad a 60 °C (cP)
M ₁	0.4	250	120
M ₂	0.7	142.86	174
M ₃	1	100	230
M ₄	1.4	71.43	215

Fuente: Elaboración propia, 2021

Fotografía N° 3-20 Medición de la viscosidad de los geles de la pectina extraída



Fuente: Elaboración propia, 2021

Se midió la viscosidad de los diferentes geles de pectina a 60 °C, se observó que el gel formado en el tercer ensayo, es el gel presenta las características más apropiadas, lo cual se demuestra una gelificación rápida con un tiempo de gelificación menor a 5 min lo cual permite que en los productos industriales donde se utiliza pectina se desarrolle una gelificación uniforme, con mayor rapidez, evitando la sinéresis, que es la separación de las fases que componen una suspensión o mezcla.

3.3. Comparación entre la pectina extraída a partir de la cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) y la pectina estándar

Se realizaron análisis fisicoquímicos de la pectina extraída:

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-26 Análisis fisicoquímico de la pectina extraída

Componente	Unidad	Especificación (Pectina estándar)	Pectina extraída de cáscara de limón
pH	H ⁺	2.8 - 3.60	3.44
Humedad	% masa	8.51 ± 1.95	2.59
Cenizas	% masa	3.77 ± 3.39	1.72
Acidez libre	meq/g	0.78 ± 0.46	0.83
Peso equivalente	mg/meq	1 775.46 ± 1 143.78	1 209.83
Contenido de metoxilo	%	6.93 ± 3.22	11.26
Grado de esterificación	%	74.71 ± 3.32	81.34
Ácido galacturónico	%	68.29 ± 13.39	71.74
Grado de gelificación	°SAG	150 ± 5	100
Color	-	Marrón claro a blanco crema	Beige claro

Fuente: Elaboración propia, 2021

La pectina extraída a partir de cáscara de limón, y según las pruebas sensoriales que se realizó el producto presenta un color beige claro, un olor neutro y un sabor ligeramente ácido.

Los valores obtenidos de pH y cenizas de la pectina extraída son de 3.44 y cenizas de 1.72 % respectivamente, los cuales se encuentran dentro del rango establecido de la pectina estándar, el bajo pH nos ayuda a gelificar y el bajo porcentaje de cenizas no afecta en la capacidad de gelificación del producto. El valor de la humedad de la pectina extraída es de 2.59 % el cual su bajo contenido de humedad ayuda a prolongar la conservación de la pectina extraída impidiendo el desarrollo de microorganismos.

Se obtuvo una acidez libre 0.83 meq/g de la pectina extraída, el cual este valor se encuentra dentro del rango establecido de la pectina estándar. La acidez libre representa los carboxilos libres en la cadena lineal de la pectina.

El valor obtenido del análisis realizado del peso equivalente de la pectina extraída es de 1 209.83 mg/meq, el cual está dentro del rango determinado en la pectina estándar. Este valor está definido como el número de mg de ácido galacturónico puro por miliequivalente de grupos carboxilo libres.

El contenido de metoxilo de la pectina extraída es de 11.26 %, este parámetro contribuye por un lado a regular la velocidad de gelificación y también es responsable de algunas propiedades organolépticas de los geles pectina-azúcar. El valor que se obtuvo está ligeramente por encima del rango especificado en la pectina estándar.

Se obtuvo un grado de esterificación de 81.34 % en la pectina extraída, por lo tanto, se clasifica como pectina de alto metoxilo. El valor obtenido en el análisis realizado está ligeramente por encima del rango establecido en la pectina estándar. Debido a que se obtiene una pectina de alto grado de esterificación, mayor es la temperatura de gelificación. Este tipo de pectinas requieren de grandes cantidades de azúcar (55 - 85 %), un pH bajo de 2 a 4.5 y elevada temperatura para formar gel con características rígidas y sólidas que los geles de pectinas con bajo metoxilo.

El ácido anhídrido galacturónico es el parámetro más importante para determinar su calidad, es decir, que entre mayor es el porcentaje del ácido galacturónico mayor es la pureza. El porcentaje que se obtuvo de ácido anhídrido galacturónico en la pectina extraída es de 71.74 %. Este valor está dentro del rango establecido en la pectina estándar, por lo tanto, se obtuvo una pectina de una pureza aceptable con baja cantidad de impurezas.

El grado de gelificación de la pectina extraída es de 100 °SAG, se demuestra una gelificación rápida. Este valor está por debajo de lo que indica el rango establecido en la pectina estándar que es de 150 °SAG, esto se debe a que se obtuvo una pectina con un alto grado de esterificación o de metoxilación y esta característica química determina su capacidad para formar geles en presencia de azúcar y ácido, y su aplicación se orienta principalmente a la elaboración de mermeladas, jaleas y preparación de bebidas lácteas.

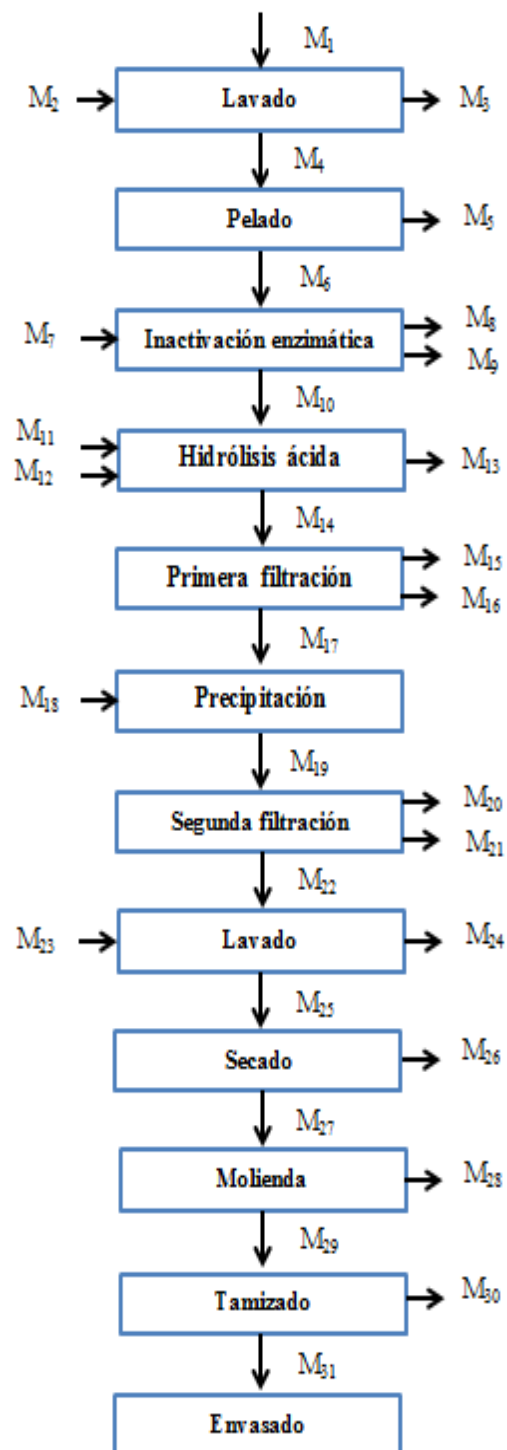
3.4. Balance de materia para el proceso de extracción de pectina de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*)

Se realizó un balance de materia para determinar los flujos de masa y las pérdidas que existen en el proceso, ya sea en la etapa de inactivación enzimática, hidrólisis ácida, filtración, precipitación, secado, etc.

Para el balance de materia se realizó en base a los datos obtenidos experimentalmente, el cual se realizó la extracción de pectina a partir de 100 g de cáscara de limón. Para realizar el balance se utilizaron los parámetros con los cuales se obtuvo mayor rendimiento en la extracción de pectina: Temperatura de 80 °C, pH de 1.5 y un tiempo de hidrólisis de 60 min.

El diagrama de bloques general de la investigación representa todos los procesos realizados para extracción experimental de la pectina a partir de la cáscara de limón es el siguiente:

Figura 3-21 Balance de materia para la extracción de pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

Donde $M_{\#}$ son las corrientes másicas en gramos (g).

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-27
Especificaciones de las corrientes másicas del balance de materia

CORRIENTE	ESPECIFICACIÓN
M_1	Masa de limón
M_2	Masa de H_2O para lavado
M_3	Masa de H_2O residual e impurezas del lavado
M_4	Masa de limón lavado
M_5	Masa de pulpa y flavedo
M_6	Masa de cáscara de limón (albedo)
M_7	Masa de H_2O para inactivación enzimática
M_8	Masa de H_2O residual de la inactivación enzimática
M_9	Masa de H_2O evaporada
M_{10}	Masa de cáscara de limón inactivado
M_{11}	Masa de HCl para hidrólisis ácida
M_{12}	Masa de H_2O para hidrólisis ácida
M_{13}	Masa de solución evaporada
M_{14}	Masa de solución hidrolizada
M_{15}	Masa de bagazo de cáscara de limón purgado
M_{16}	Masa de pérdida por filtración
M_{17}	Masa de solución de pectina diluida
M_{18}	Masa de C_2H_5OH al 96 % para precipitación
M_{19}	Masa de (pectina húmeda y solución ácida residual)
M_{20}	Masa de solución ácida residual
M_{21}	Masa de pérdida por filtración
M_{22}	Masa de pectina húmeda
M_{23}	Masa de C_2H_5OH al 96 % para lavado de pectina
M_{24}	Masa de solución alcohólica residual
M_{25}	Masa de pectina lavada
M_{26}	Masa de agua evaporada
M_{27}	Masa de pectina seca
M_{28}	Masa de pectina perdida en molienda
M_{29}	Masa de pectina molida
M_{30}	Masa de pectina perdida en tamizado
M_{31}	Masa de pectina extraída

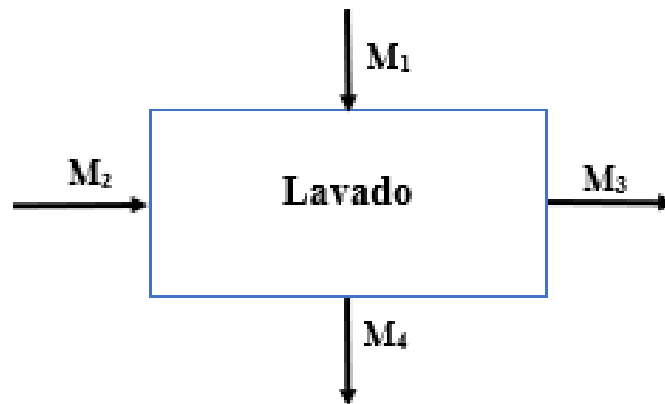
Fuente: Elaboración propia, 2021

El balance de la materia del proceso de extracción de pectina a partir de la cáscara de limón es el siguiente:

3.4.1. Etapa de lavado

Para el lavado de la materia prima se utilizó 400 ml de agua destilada, el cual se consideró con una densidad de 1 g/ml, por lo tanto, se usó 400 g de agua para el lavado. Se realizó este proceso para eliminar las impurezas que puede contener la materia prima. Entonces:

Figura 3-22 Etapa de lavado



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas son las siguientes:

$$M_1 = 402.390 \text{ g}$$

$$M_2 = 400 \text{ g}$$

$$M_4 = 402.185 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_1 + M_2 = M_3 + M_4 \quad \text{Ec. (3-1)}$$

$$M_3 = M_1 + M_2 - M_4 \quad \text{Ec. (3-2)}$$

$$M_3 = (402.390 + 400 - 402.185) \text{ g}$$

$$M_3 = 400.205 \text{ g}$$

Donde:

M_1 : Masa de limón.

M_2 : Masa de H_2O para lavado.

M_3 : Masa de H_2O residual e impurezas del lavado.

M_4 : Masa de limón lavado.

Determinación de la cantidad de impurezas I:

$$I = M_3 - M_2 \quad \text{Ec. (3-3)}$$

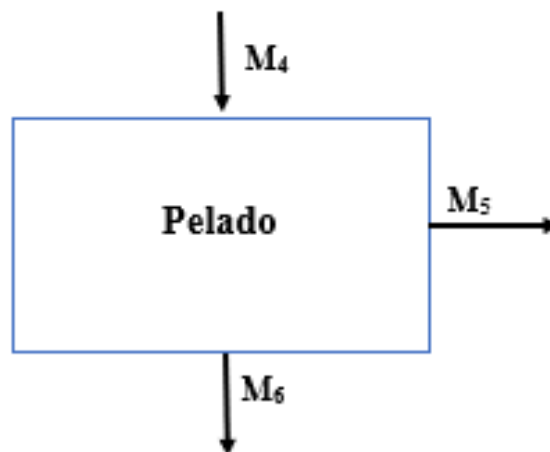
$$I = (400.205 - 400)\text{g}$$

$$I = 0.205 \text{ g}$$

3.4.2. Etapa de pelado

Se procedió a pelar el limón y se separa el albedo de la pulpa y flavedo. Luego del pelado se pesó la cáscara de limón(albedo), donde los datos obtenidos son los siguientes:

Figura 3-23 Etapa de pelado



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas son las siguientes:

$$M_4 = 402.185 \text{ g}$$

$$M_6 = 100 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_4 = M_5 + M_6 \quad \text{Ec. (3-4)}$$

$$M_5 = M_4 - M_6 \quad \text{Ec. (3.5)}$$

$$M_5 = (402.185 - 100) \text{ g}$$

$$M_5 = 302.185 \text{ g}$$

Donde:

M_4 : Masa de limón lavado.

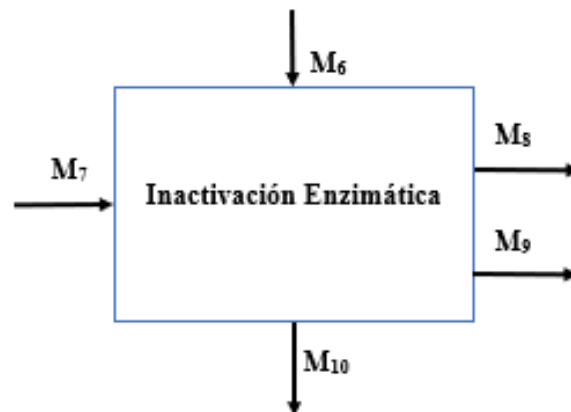
M_5 : Masa de pulpa y flavedo.

M_6 : Masa de cáscara de limón (albedo).

3.4.3. Etapa de inactivación enzimática

Para esta etapa se utilizó una relación de 400 ml de agua destilada por 100 g albedo. Se consideró la densidad del agua destilada de 1 g/ml, por lo tanto, la masa del agua

Figura 3-24 Etapa de inactivación enzimática



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas son las siguientes:

$$M_6 = 100 \text{ g}$$

$$M_7 = 400 \text{ g}$$

$$M_8 = 229.094 \text{ g}$$

$$M_{10} = 141.175 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_6 + M_7 = M_8 + M_9 + M_{10} \quad \text{Ec. (3-6)}$$

$$M_9 = M_7 + M_6 - M_{10} - M_8 \quad \text{Ec. (3-7)}$$

$$M_9 = (400 + 100 - 141.175 - 229.094) \text{ g}$$

$$M_9 = 129.731 \text{ g}$$

Donde:

M_6 : Masa de cáscara de limón (albedo).

M_7 : Masa de H_2O para inactivación enzimática.

M_8 : Masa de H_2O residual de la inactivación enzimática.

M_9 : Masa de H_2O evaporada.

M_{10} : Masa de cáscara de limón inactivado.

3.4.4. Etapa de hidrólisis ácida

Para esta etapa, se utilizó la misma cantidad de agua destilada que en la etapa de inactivación enzimática.

Se agregó HCl 1 N al agua destilada para ajustar el pH, el cual presenta un pH de 4.4, por lo tanto, se necesitó 20 ml de HCl 1 N para disminuir el pH hasta un valor de 1.5.

Se consideró una densidad de HCl 1 N de 1.02 g/ml, por lo tanto, se tiene una masa de HCl 1 N de:

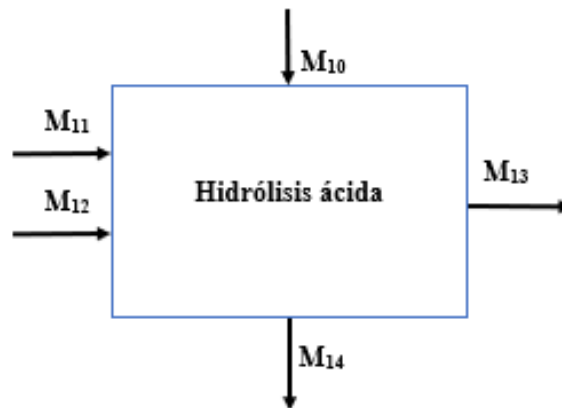
$$\rho_{\text{HCl}} = \frac{m_{\text{HCl}}}{V_{\text{HCl}}} \quad \text{Ec. (3-8)}$$

$$m_{\text{HCl}} = \rho_{\text{HCl}} * V_{\text{HCl}} \quad \text{Ec. (3-9)}$$

$$m_{\text{HCl}} = 1.02 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 20 \text{ ml}$$

$$m_{\text{HCl}} = 20.4 \text{ g}$$

Figura 3-25 Etapa de hidrólisis ácida



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidos son las siguientes:

$$M_{10} = 141.175 \text{ g}$$

$$M_{11} = 20.4 \text{ g}$$

$$M_{12} = 400 \text{ g}$$

$$M_{14} = 446.979 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{10} + M_{11} + M_{12} = M_{13} + M_{14} \quad \text{Ec. (3-10)}$$

$$M_{13} = M_{10} + M_{11} + M_{12} - M_{14} \quad \text{Ec. (3-11)}$$

$$M_{13} = (141.175 + 20.4 + 400 - 446.979) \text{ g}$$

$$M_{13} = 114.596 \text{ g}$$

Donde:

M_{10} : Masa de cascara de limón inactivado.

M_{11} : Masa de HCl para hidrólisis ácida.

M_{12} : Masa de H_2O para hidrólisis ácida.

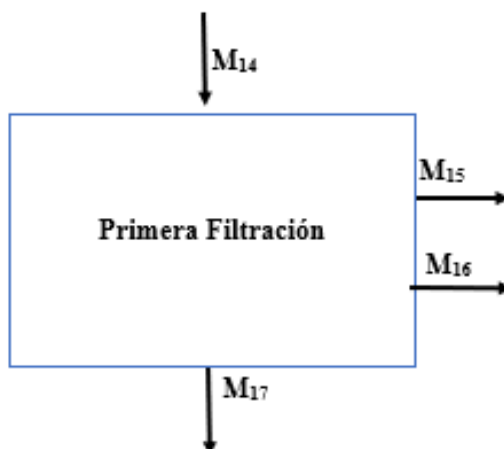
M_{13} : Masa de solución evaporada.

M_{14} : Masa de solución hidrolizada.

3.4.5. Etapa de primera filtración

Se separó el bagazo de la cáscara de limón de la solución hidrolizada, mediante un proceso de filtrado.

Figura 3-26 Etapa de primera filtración



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{14} = 446.679 \text{ g}$$

$$M_{15} = 117.235 \text{ g}$$

$$M_{17} = 325.404 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{14} = M_{15} + M_{16} + M_{17} \quad \text{Ec. (3-12)}$$

$$M_{16} = M_{14} - M_{15} - M_{17} \quad \text{Ec. (3-13)}$$

$$M_{16} = (446.679 - 117.235 - 325.404)\text{g}$$

$$M_{16} = 4.04 \text{ g}$$

Donde:

M_{14} : Masa de solución hidrolizada.

M_{15} : Masa de bagazo de cáscara de limón purgado.

M_{16} : Masa de pérdida por filtración.

M_{17} : Masa de solución de pectina diluida.

3.4.6. Etapa de precipitación

La solución de pectina diluida se precipitó con $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % a una relación del 80 % del volumen de la solución. Se determinó un volumen de 328 ml de la solución de pectina diluida, por ende, se tiene un volumen del $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ de:

$$V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = V_{\text{solución}} * 0.8 \quad \text{Ec. (3-14)}$$

$$V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 328 \text{ ml} * 0.8$$

$$V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 262.4 \text{ ml}$$

Se considera una densidad del $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % de 0.806 g/ml. Por lo tanto, la masa de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % utilizado para la etapa de precipitación es de:

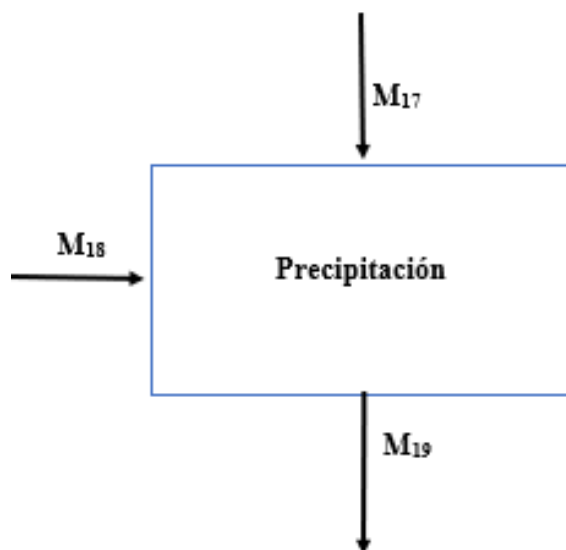
$$\rho_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = \frac{m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}}{V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}} \quad \text{Ec. (3-15)}$$

$$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = \rho_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} * V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} \quad \text{Ec. (3-16)}$$

$$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 0.806 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 262.4 \text{ ml}$$

$$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 211.494 \text{ g}$$

Figura 3-27 Etapa de precipitación



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{17} = 325.404 \text{ g}$$

$$M_{18} = 211.494 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{17} + M_{18} = M_{19} \quad \text{Ec. (3-17)}$$

$$M_{19} = (325.404 + 211.494) \text{ g}$$

$$M_{19} = 536.898 \text{ g}$$

Donde:

M_{17} : Masa de solución de pectina diluida.

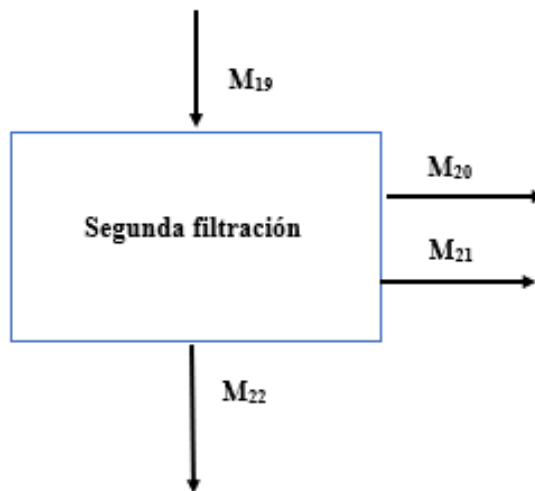
M_{18} : Masa de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % para precipitación.

M_{19} : Masa de (pectina húmeda y solución ácida residual).

3.4.7. Etapa de segunda filtración

Se separó la pectina húmeda de la solución ácida residual mediante un proceso de filtración al vacío.

Figura 3-28 Etapa de segunda filtración



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{19} = 536.898 \text{ g}$$

$$M_{20} = 385.417 \text{ g}$$

$$M_{22} = 148.483 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{19} = M_{20} + M_{21} + M_{22} \quad \text{Ec. (3-18)}$$

$$M_{21} = M_{19} - M_{20} - M_{22} \quad \text{Ec. (3-19)}$$

$$M_{21} = (536.898 - 385.417 - 148.483) \text{ g}$$

$$M_{21} = 2.998 \text{ g}$$

Donde:

M_{19} : Masa de (pectina húmeda y solución ácida residual).

M_{20} : Masa de solución ácida residual.

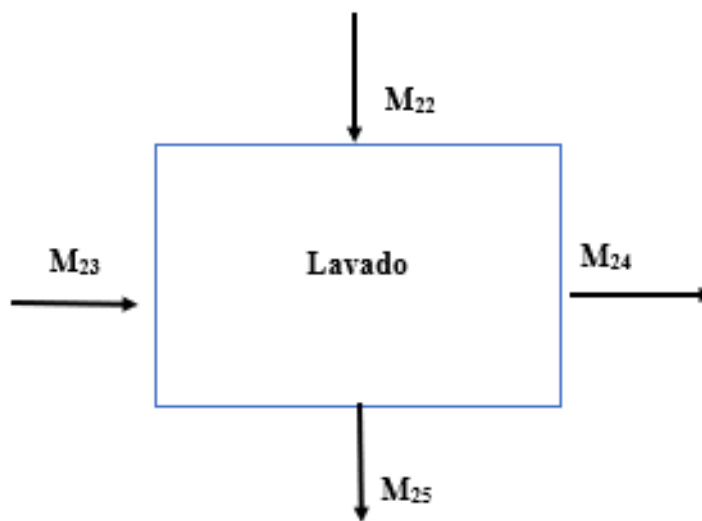
M_{21} : Masa de pérdida por filtración.

M_{22} : Masa de pectina húmeda.

3.4.8. Etapa de lavado

La pectina húmeda obtenida, se procedió a eliminar las impurezas usando alcohol y así obtener una mejor apariencia final de la pectina, se utilizó 160 g de C_2H_5OH al 96 %.

Figura 3-29 Etapa de lavado



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{22} = 148.483 \text{ g}$$

$$M_{23} = 160 \text{ g}$$

$$M_{25} = 150.672 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{22} + M_{23} = M_{24} + M_{25} \quad \text{Ec. (3-20)}$$

$$M_{24} = M_{22} + M_{23} - M_{25} \quad \text{Ec. (3-21)}$$

$$M_{24} = (148.483 + 160 - 150.672) \text{ g}$$

$$M_{24} = 157.811 \text{ g}$$

Donde:

M_{22} : Masa de pectina húmeda.

M_{23} : Masa de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % para lavado de pectina.

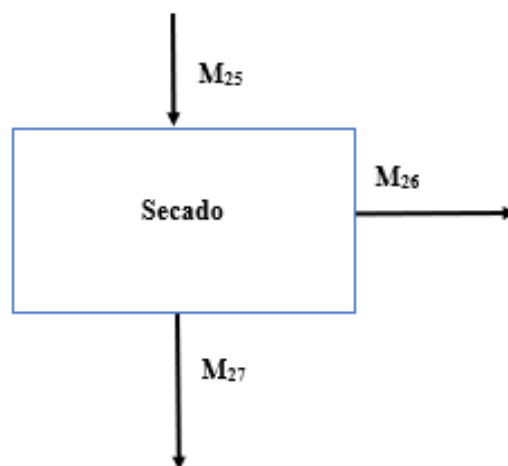
M_{24} : Masa de solución alcohólica residual.

M_{25} : Masa de pectina lavada.

3.4.9. Etapa de secado

En esta etapa se eliminó la cantidad de agua que contiene la pectina húmeda hasta obtener un peso constante usando un secador de bandeja. Se trabajó con una temperatura de secado de $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Figura 3-30 Etapa de secado



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{25} = 150.672 \text{ g}$$

$$M_{27} = 3.48 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{25} = M_{26} + M_{27} \quad \text{Ec. (3-22)}$$

$$M_{26} = M_{25} - M_{27} \quad \text{Ec. (3-23)}$$

$$M_{26} = (150.672 - 3.48) \text{ g}$$

$$M_{26} = 147.192 \text{ g}$$

Donde:

M_{25} : Masa de pectina lavada.

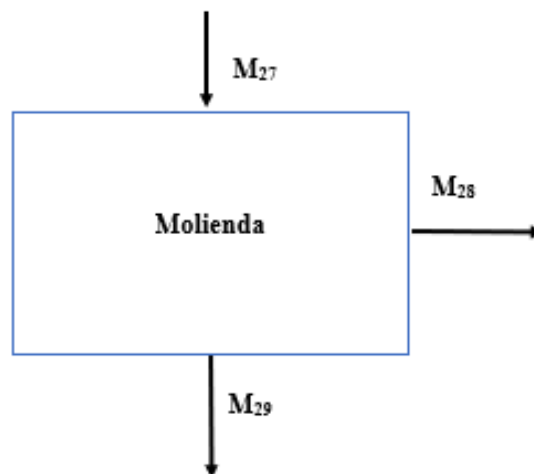
M_{26} : Masa de H_2O evaporada.

M_{27} : Masa de pectina seca.

3.4.10. Etapa de molienda

Se realizó el proceso de molienda para obtener un polvo fino de la pectina.

Figura 3-31 Etapa de molienda



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{27} = 3.48 \text{ g}$$

$$M_{29} = 3.428 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{27} = M_{28} + M_{29} \quad \text{Ec. (3-24)}$$

$$M_{28} = M_{27} - M_{29} \quad \text{Ec. (3-25)}$$

$$M_{28} = (3.48 - 3.428) \text{ g}$$

$$M_{28} = 0.052 \text{ g}$$

Donde:

M_{27} : Masa de pectina seca.

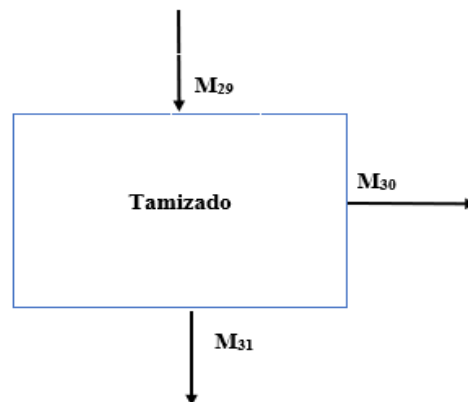
M_{28} : Masa de pectina perdida en molienda.

M_{29} : Masa de pectina molida.

3.4.11. Etapa de tamizado y envasado

Se realizó el tamizado para obtener una pectina homogenizada al pasar por una malla N°60 (ASTM).

Figura 3-32 Etapa de tamizado



Fuente: Elaboración propia, 2021

Los valores de las corrientes másicas obtenidas son las siguientes:

$$M_{29} = 3.428 \text{ g}$$

$$M_{30} = 0.108 \text{ g}$$

Balance global:

$$M_{29} = M_{30} + M_{31} \quad \text{Ec. (3-26)}$$

$$M_{31} = M_{29} - M_{30} \quad \text{Ec. (3-27)}$$

$$M_{31} = (3.428 - 0.108) \text{ g}$$

$$M_{31} = 3.32 \text{ g}$$

Donde:

M_{29} : Masa de pectina molida.

M_{30} : Masa de pectina perdida en tamizado.

M_{31} : Masa de pectina extraída.

La pectina final obtenida es de 3.361 g, se envasó en bolsa de polietileno de alta densidad apta para insumos alimenticios.

Entonces el rendimiento del proceso de extracción con los parámetros óptimos es:

$$\text{Rendimiento del proceso} = \frac{m_{\text{pectina}}}{m_{\text{cáscara de limón}}} * 100 \% \quad \text{Ec. (3-28)}$$

Donde:

$$m_{\text{pectina}} = 3.32 \text{ g}$$

$$m_{\text{cáscara de limón}} = 100 \text{ g}$$

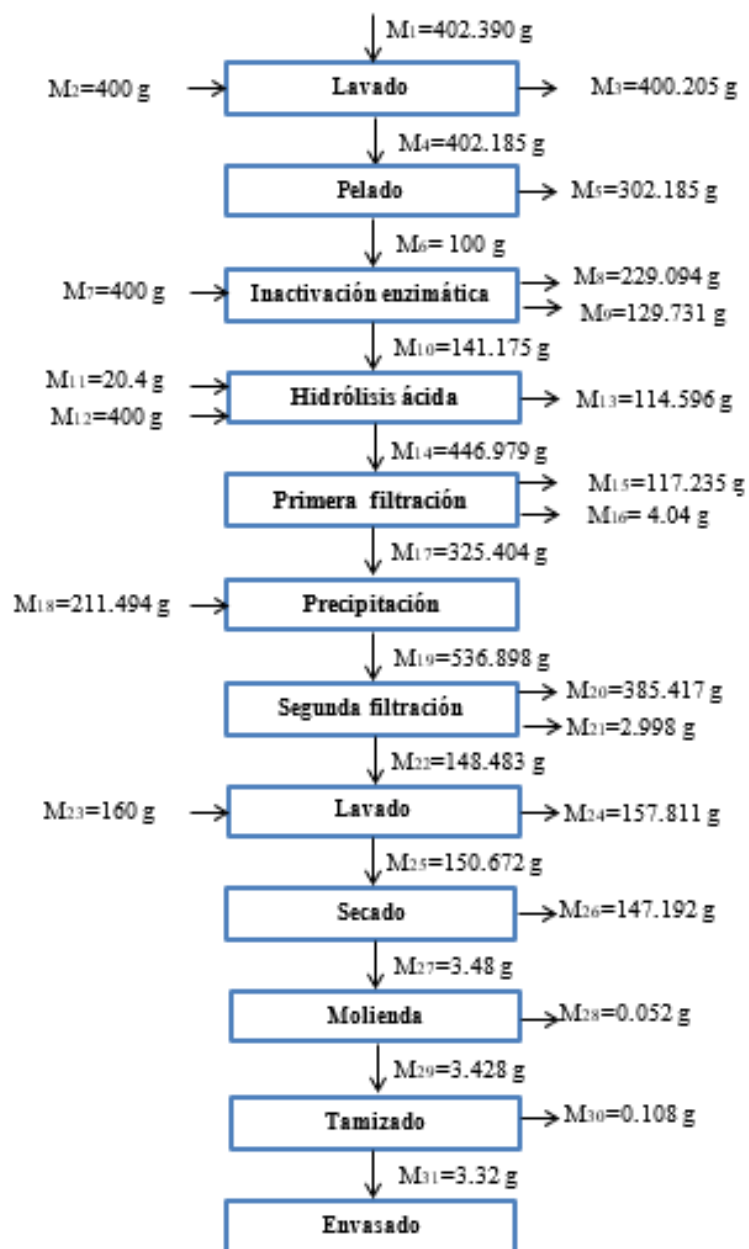
$$\text{Rendimiento del proceso} = \frac{3.32 \text{ g}}{100 \text{ g}} * 100 \%$$

$$\text{Rendimiento del proceso} = 3.320 \%$$

3.4.12. Resumen del balance de materia del proceso de extracción

A continuación, en la figura 3-13 se muestra el resumen del balance de materia realizado con los resultados obtenidos:

Figura 3-33 Resumen del balance de materia de la extracción de pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-28 **Resumen del balance de materia**

Etapa	Corriente	Masa (g)	% desechos	% pérdidas
	M ₁	402.390		
Lavado de la materia prima	M ₂	400		
	M ₃	400.205		
	M ₄	402.185		
Pelado	M ₅	302.185	75.14	
	M ₆	100		
	M ₇	400		
Inactivación enzimática	M ₈	229.094	57.27	
	M ₉	129.731		
	M ₁₀	141.175		
Hidrólisis ácida	M ₁₁	20.400		
	M ₁₂	400		
	M ₁₃	114.596		
Primera filtración	M ₁₄	446.979		
	M ₁₅	117.235		
	M ₁₆	4.040	26.23	0.90
M ₁₇	325.404			
M ₁₈	211.494			
Precipitación	M ₁₉	536.898		
	M ₂₀	385.417		
	M ₂₁	2.998	71.79	0.56
M ₂₂	148.483			
M ₂₃	160			
Lavado de la pectina	M ₂₄	157.811	98.63	
	M ₂₅	150.672		
	M ₂₆	147.192		
Secado	M ₂₇	3.480		
	M ₂₈	0.052		
Molienda	M ₂₉	3.428		1.49
Tamizado	M ₃₀	0.108		3.15
	M ₃₁	3.320		

Fuente: Elaboración propia, 2021

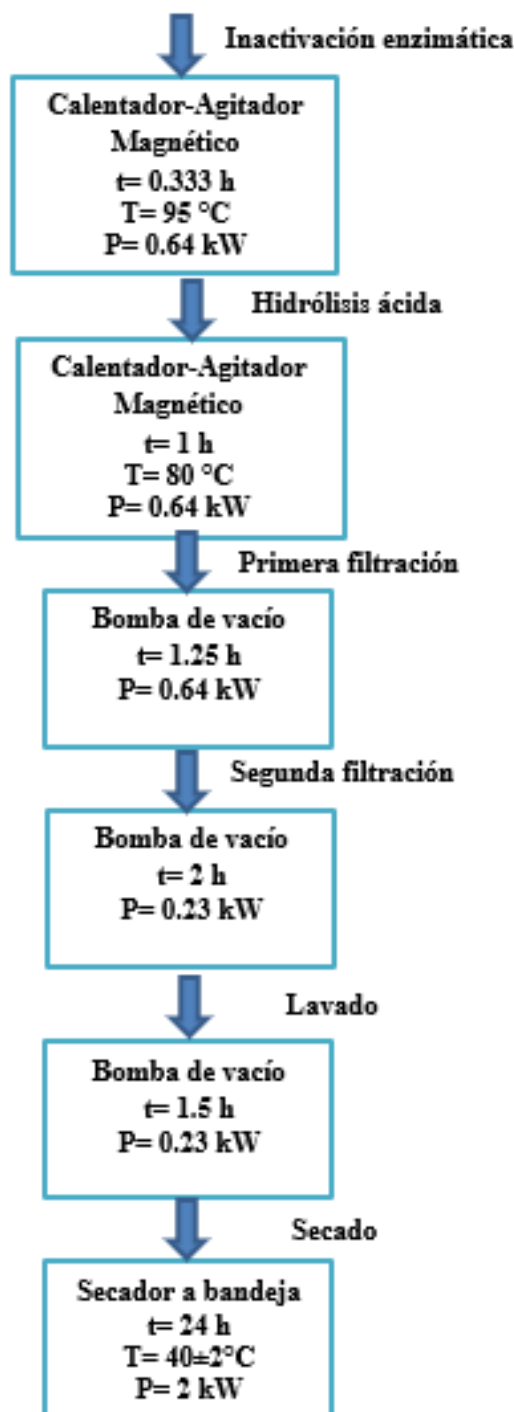
Con los diferentes desechos del proceso:

- La pulpa del limón (M_5) se puede aprovechar para producir jugo concentrado o vender a costo bajo a empresas que produzcan este producto y/o venderlo a restaurantes que elaboran jugos de limón a base de pulpa.
- El agua utilizada para el lavado de la materia prima (M_2) y en la inactivación enzimática (M_8) se puede reutilizar para otro experimento de la extracción de pectina o se puede desechar debido que no presenta problemas para el medio ambiente.
- El flavedo y bagazo de limón acidificado (M_{15}) se puede vender a terceros que se encarguen de producir abonos orgánicos.
- La masa de solución ácida residual (M_{20}) y la solución alcohólica residual (M_{24}) los cuales contiene etanol que se utilizó para precipitar la pectina y para su lavado respectivamente, se puede recuperar parte de este compuesto por destilación y poder reutilizarlos en el proceso de extracción.
- Las partículas del producto que no pasaron por el tamiz malla N°60, se volvió a moler para reducir su tamaño y así disminuir la pérdida del producto en la etapa de tamizado.

3.5. Balance de energía para el proceso de extracción de pectina de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*)

Se realizó un diagrama de flujo para el balance de energía en la extracción de pectina, en toda etapa donde hubo consumo de energía.

Figura 3-34 Balance de energía para la extracción de pectina



Fuente: Elaboración propia, 2021

3.5.1. Etapa de inactivación enzimática

Esta etapa se realizó en el calentador – agitador magnético entre una temperatura de (92 – 95 °C) por un lapso de 20 min con un peso de materia de 100 g de cáscara de limón.

Donde:

Tiempo= $t = 0.333$ h

Potencia del calentador – agitador magnético = $P_{\text{Calentador}} = 0.64$ kW

Temperatura del calentador – agitador magnético = 95 °C

Energía del calentador – agitador magnético= $E_{\text{Calentador}}$

$$E_{\text{Calentador}} = P_{\text{Calentador}} * t \quad \text{Ec. (3-29)}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 0.64 \text{ kW} * 0.333 \text{ h}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 0.213 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de inactivación enzimática en kJ es de:

$$E_{\text{Calentador}} = 0.213 \text{ kW} - \text{h} * 3600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 767.232 \text{ kJ}$$

3.5.2. Etapa de hidrólisis ácida

Esta etapa se realizó en el calentador – agitador magnético a una temperatura de 80 °C por un lapso de 60 min.

Tiempo = $t = 1$ h

Potencia del calentador – agitador magnético = $P_{\text{Calentador}} = 0.64$ kW

Energía del calentador – agitador magnético= $E_{\text{Calentador}}$

$$E_{\text{Calentador}} = P_{\text{Calentador}} * t \quad \text{Ec. (3-30)}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 0.64 \text{ kW} * 1 \text{ h}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 0.640 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de inactivación enzimática en kJ es de:

$$E_{\text{Calentador}} = 0.64 \text{ kW} - \text{h} * 3\,600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Calentador}} = 2\,304 \text{ kJ}$$

3.5.3. Etapa de primera filtración

En esta etapa se separó la solución hidrolizada del bagazo, se realizó empleando una bomba de vacío conectado a un Kitasato con un embudo Büchner por un lapso de 2 h.

Tiempo = $t = 2 \text{ h}$

Potencia de la bomba de vacío = $P_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW}$

Energía de la bomba de vacío = E_{Bomba}

$$E_{\text{Bomba}} = P_{\text{Bomba}} * t \quad \text{Ec. (3-31)}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW} * 2 \text{ h}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.460 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de la primera filtración en kJ es de:

$$E_{\text{Bomba}} = 0.46 \text{ kW} - \text{h} * 3\,600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 1\,656 \text{ kJ}$$

3.5.4. Etapa de segunda filtración

En esta etapa se separó la pectina húmeda de la solución ácida residual, se realizó usando una bomba de vacío conectado a un Kitasato con un embudo Büchner por un lapso de 90 min.

Tiempo = $t = 1.5 \text{ h}$

Potencia de la bomba de vacío = $P_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW}$

Energía de la bomba de vacío = E_{Bomba}

$$E_{\text{Bomba}} = P_{\text{Bomba}} * t \quad \text{Ec. (3-32)}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW} * 1.5 \text{ h}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.345 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de la segunda filtración en kJ es de:

$$E_{\text{Bomba}} = 0.345 \text{ kW} - \text{h} * 3\,600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 1\,242 \text{ kJ}$$

3.5.5. Etapa de lavado

En esta etapa se procedió a lavar la pectina húmeda con $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ al 96 % para eliminar impurezas. Se realizó usando una bomba de vacío conectado a un Kitasato con un embudo Büchner por un lapso de 60 min.

$$\text{Tiempo} = t = 1 \text{ h}$$

$$\text{Potencia de la bomba de vacío} = P_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW}$$

$$\text{Energía de la bomba de vacío} = E_{\text{Bomba}}$$

$$E_{\text{Bomba}} = P_{\text{Bomba}} * t \quad \text{Ec. (3-33)}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW} * 1 \text{ h}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 0.230 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de lavado en kJ es de:

$$E_{\text{Bomba}} = 0.23 \text{ kW} - \text{h} * 3\,600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Bomba}} = 828 \text{ kJ}$$

3.5.6. Etapa de secado

Esta etapa se realizó en el secador de bandeja a una temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ por un lapso de 24 h, se realizó el secado hasta obtener un peso constante de la pectina.

Tiempo = $t = 24 \text{ h}$

Potencia del secador de bandeja = $P_{\text{Secador}} = 2 \text{ kW}$

Energía del secador de bandeja = E_{Secador}

$$E_{\text{Secador}} = P_{\text{Secador}} * t \quad \text{Ec. (3-34)}$$

$$E_{\text{Secador}} = 2 \text{ kW} * 24 \text{ h}$$

$$E_{\text{Secador}} = 48 \text{ kW} - \text{h}$$

La energía consumida en la etapa de secado en kJ es de:

$$E_{\text{Secador}} = 48 \text{ kW} - \text{h} * 3\,600 \frac{\text{kJ}}{\text{kW} - \text{h}}$$

$$E_{\text{Secador}} = 172\,800 \text{ kJ}$$

Los valores del consumo energético por cada etapa son los siguientes:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-29 **Valores del consumo energético del balance de energía**

Etapa	Equipo utilizado	Consumo energético por equipo (kW-h)	Energía consumida (kJ)
Inactivación enzimática	Calentador – agitador magnético	0.213	767.232
Hidrólisis ácida	Calentador – agitador magnético	0.640	2 304
Primera filtración	Bomba de vacío	0.460	1 656
Segunda filtración	Bomba de vacío	0.345	1 242
Lavado	Bomba de vacío	0.230	828
Secado	Secador de bandeja	48	172 800
Total			179 597.232

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.6. Análisis estadístico

La varianza es una medida de dispersión que representa la variabilidad de una serie de datos respecto a su media, el análisis de varianza (ANOVA) que nos permite medir el nivel de significancia de las principales variables independientes que afectan a la variable respuesta del diseño factorial del proyecto.

Para la realización de análisis estadístico para la extracción de pectina a partir de la cáscara de limón se utilizó el programa Minitab Versión 19.

3.6.1. Influencia de la temperatura, pH y tiempo en el rendimiento de pectina

En base a los resultados obtenidos, el rendimiento se correlaciona directamente al disminuir el pH durante la extracción de pectina cítrica. También se observa un incremento en el rendimiento de pectina extraída, a medida que se aumenta la temperatura de extracción. Debido que altas temperaturas ayuda a solubilizar la pectina y otros componentes pécticos presentes en la pared celular (protopectina), por lo tanto, aumenta el rendimiento. El aumento del tiempo de hidrólisis no presentó cambios significativos.

La gran diferencia de valores observados en porcentaje de pectina extraída, se debe probablemente, a las condiciones de extracción. En este apartado se analizó la influencia de estas tres variables independientes: la temperatura de hidrólisis, el pH y el tiempo de hidrólisis.

3.6.2. Análisis estadístico de la variable respuesta rendimiento

Análisis de varianza (ANOVA) también conocida como análisis factorial, constituye la herramienta básica para el estudio del efecto de uno o más factores (cada uno con dos o más niveles) sobre la media de una variable continua. Es por lo tanto el test estadístico a emplear cuando se desea comparar las medias de dos o más grupos. Esta técnica puede generalizarse también para estudiar los posibles efectos de los factores sobre la varianza de una variable.

Para la realización del análisis estadístico para la variable respuesta rendimiento de la

pectina extraída a partir de la cáscara de limón, se tomaron los valores de la tabla III-13.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-30 **Resumen del diseño factorial variable respuesta rendimiento**

Factores:	3	Diseño de la base:	3:8
Corridas:	16	Réplicas:	2
Bloques:	1	Puntos centrales (total):	0

Fuente: Minitab 19, 2021

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-31 **Diseño factorial variable respuesta rendimiento**

Corrida	PtCentral	Bloques	Temperatura (°C)	pH	Tiempo (min)	Rendimiento (%)
1	1	1	60	1.5	60	2.654
2	1	1	80	1.5	60	3.32
3	1	1	60	2.5	60	1.386
4	1	1	80	2.5	60	1.877
5	1	1	60	1.5	80	2.153
6	1	1	80	1.5	80	2.794
7	1	1	60	2.5	80	1.476
8	1	1	80	2.5	80	1.759
9	1	1	60	1.5	60	2.487
10	1	1	80	1.5	60	3.024
11	1	1	60	2.5	60	1.457
12	1	1	80	2.5	60	1.645
13	1	1	60	1.5	80	2.211
14	1	1	80	1.5	80	2.547
15	1	1	60	2.5	80	1.735
16	1	1	80	2.5	80	1.854

Fuente: Minitab 19, 2021

3.6.3. Análisis de varianza (ANOVA)

Tabla 32 Análisis de varianza (ANOVA) variable respuesta rendimiento

Fuente	G.L.	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	5.17948	0.73993	37.6	0
Lineal	3	4.7747	1.59157	80.88	0
temperatura	1	0.66463	0.66463	33.8	0
pH	1	4.001	4.001	203.32	0
tiempo	1	0.10907	0.10907	5.54	0.046
Interacciones de 2 términos	3	0.40462	0.13487	6.85	0.013
temperatura*pH	1	0.07549	0.07549	3.84	0.086
temperatura*tiempo	1	0.01581	0.01581	0.8	0.396
pH*tiempo	1	0.31332	0.31332	15.92	0.004
Interacciones de 3 términos	1	0.00016	0.00016	0.01	0.93
temperatura*pH*tiempo	1	0.00016	0.00016	0.01	0.93
Error	8	0.15742	0.01968		
Total	15	5.33691			

Fuente: Minitab 19, 2021

La tabla III-15 del análisis de varianza (ANOVA) reparte la variabilidad de la respuesta rendimiento en segmentos separados para cada uno de los efectos, luego prueba la significancia estadística de cada efecto por comparación de la media cuadrada contra una estimación del error experimental.

Los valores P de los factores e interacciones obtenidos de las combinaciones de los parámetros de la tabla III-15 son inferiores al valor P 0.05 (valor de significancia) mismos que indican que estos factores e interacciones son muy influyentes extraer pectina a partir de la cáscara de limón. Además, se puede observar interacciones como ser las interacciones temperatura*tiempo, temperatura*pH y temperatura*pH*tiempo presentan un valor P superior al 0.05 entonces no son significativas en el proceso de extracción.

Se puede observar que el modelo tiene una significancia de P 0.000 lo cual indica que es el modelo correcto para el diseño factorial.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-33 **Resumen del modelo variable respuesta rendimiento**

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.140279	97.05 %	94.47 %	88.20 %

Fuente: Minitab 19, 2021

En la tabla III-16, R-cuad. nos indica que el modelo explica el 97.05 % de la variabilidad en el rendimiento de pectina extraída a partir de la cáscara de limón. El estadístico R-cuad. (ajustado) es 94.47 %, por lo tanto, es muy prometedor para predecir la variable respuesta en posteriores experimentos con diferentes números de variables independientes. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuales es de 0.140279.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-34 **Coefficientes codificados variable respuesta rendimiento**

Término	Efecto	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor P	FIV
Constante		2.1487	0.0351	61.27	0	
temperatura	0.4076	0.2038	0.0351	5.81	0	1.00
pH	-1.0001	-0.5001	0.0351	-14.26	0	1.00
tiempo	-0.1651	-0.0826	0.0351	-2.35	0.046	1.00
temperatura*pH	-0.1374	-0.0687	0.0351	-1.96	0.086	1.00
temperatura*tiempo	-0.0629	-0.0314	0.0351	-0.9	0.396	1.00
pH*tiempo	0.2799	0.1399	0.0351	3.99	0.004	1.00
temperatura*pH*tiempo	-0.0064	-0.0032	0.0351	-0.09	0.93	1.00

Fuente: Minitab 19, 2021

3.6.4. Ecuación de la regresión lineal de la variable respuesta rendimiento

El modelo matemático que resulta del ajuste de todos los datos para variable respuesta rendimiento responde a la ecuación de regresión en unidades no codificadas:

$$\text{Rendimiento} = 4.38 + 0.061 \text{ temperatura} - 2.31 \text{ pH} - 0.051 \text{ tiempo} - 0.0093 \text{ temperatura*pH} - 0.00019 \text{ temperatura*tiempo} + 0.0324 \text{ pH*tiempo} - 0.000064 \text{ temperatura*pH*tiempo}$$

Donde el rendimiento está en ($\% m_{\text{pectina}}/m_{\text{cáscara de limón}}$) y la temperatura en $^{\circ}\text{C}$, y el tiempo en min.

Esta ecuación relaciona específicamente los niveles de los factores pH, temperatura y tiempo del diseño experimental planteado en esta investigación, de manera que la respuesta Rendimiento sea representativa de los resultados obtenidos en la experiencia.

3.6.5. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para la variable respuesta rendimiento

Un diagrama de Pareto es una gráfica de barras que nos muestra cada uno de los efectos estimados en orden decreciente de magnitud, la longitud de cada barra es proporcional al efecto estandarizado, que es el efecto estimado dividido por su error estándar, el diagrama de Pareto se utiliza para jerarquizar los defectos de mayor a menor, de forma que pueda priorizar los esfuerzos en cuanto a mejorar la calidad. La línea vertical se utiliza para juzgar cuales efectos son significativos. Cualquier barra que se prolonga más allá de esa línea corresponde a efectos que son estadísticamente significativos al nivel de confianza de 95 %.

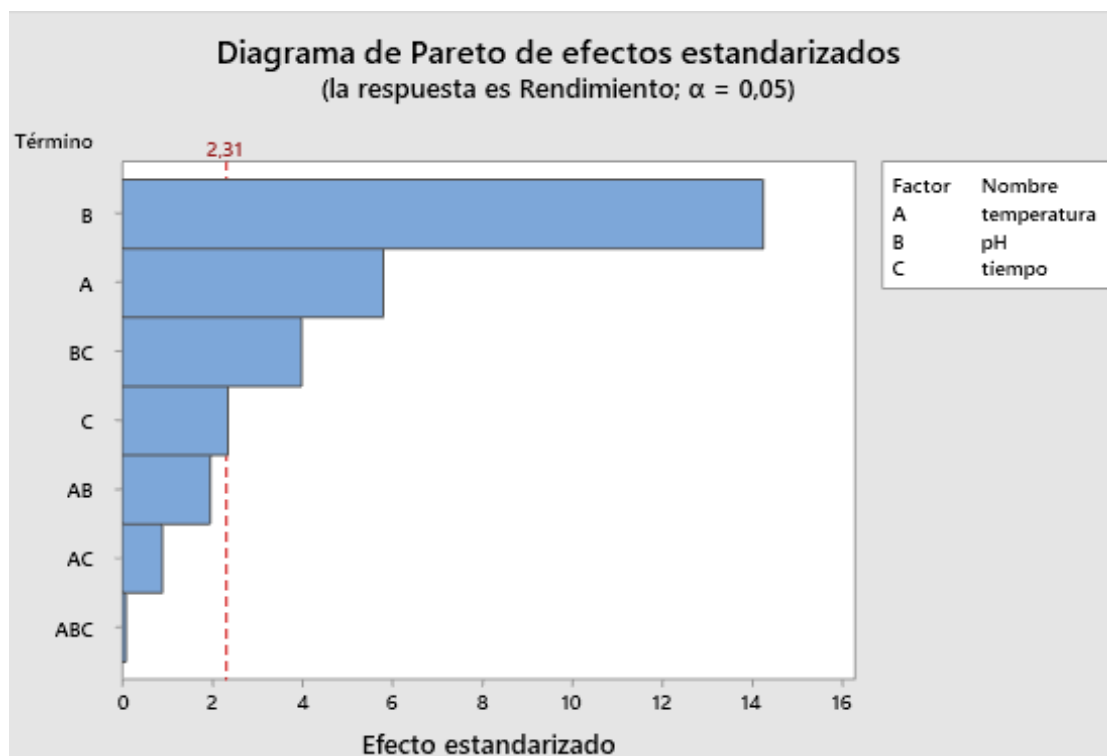
Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-35

Estructura de alias

Factor	Nombre
A	Temperatura
B	pH
C	tiempo
Alias	
I	
AB	temperatura*pH
AC	Temperatura*tiempo
BC	pH*tiempo
ABC	Temperatura*pH*tiempo

Fuente: Minitab 19, 2021

Figura 3-35 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para el rendimiento

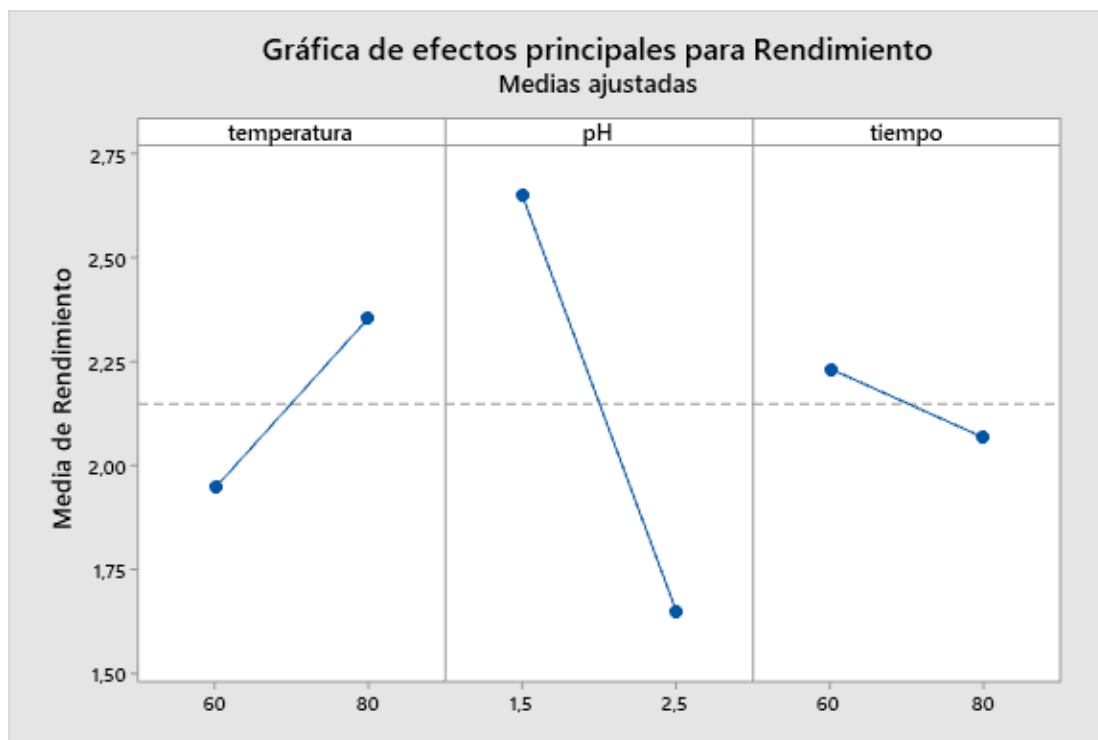


Fuente: Minitab 19, 2021

En la figura 3-15, se visualiza los factores más influyentes en los experimentos, estos factores son significativos en el diseño cuando las barras sobrepasan la línea crítica (línea en el gráfico), como se puede observar en el experimento los factores B y A son los más significativos, donde el pH (B) es el factor más predominante del análisis, el factor C supera la línea crítica, la interacción BC es significativa. Las interacciones AB, AC y ABC no son significativas ya que no sobrepasa la línea crítica (línea vertical), es decir, tiene un valor de significancia mayor a 0.05.

3.6.6. Gráficas factoriales para el rendimiento

Figura 3-36 Efectos principales para rendimiento

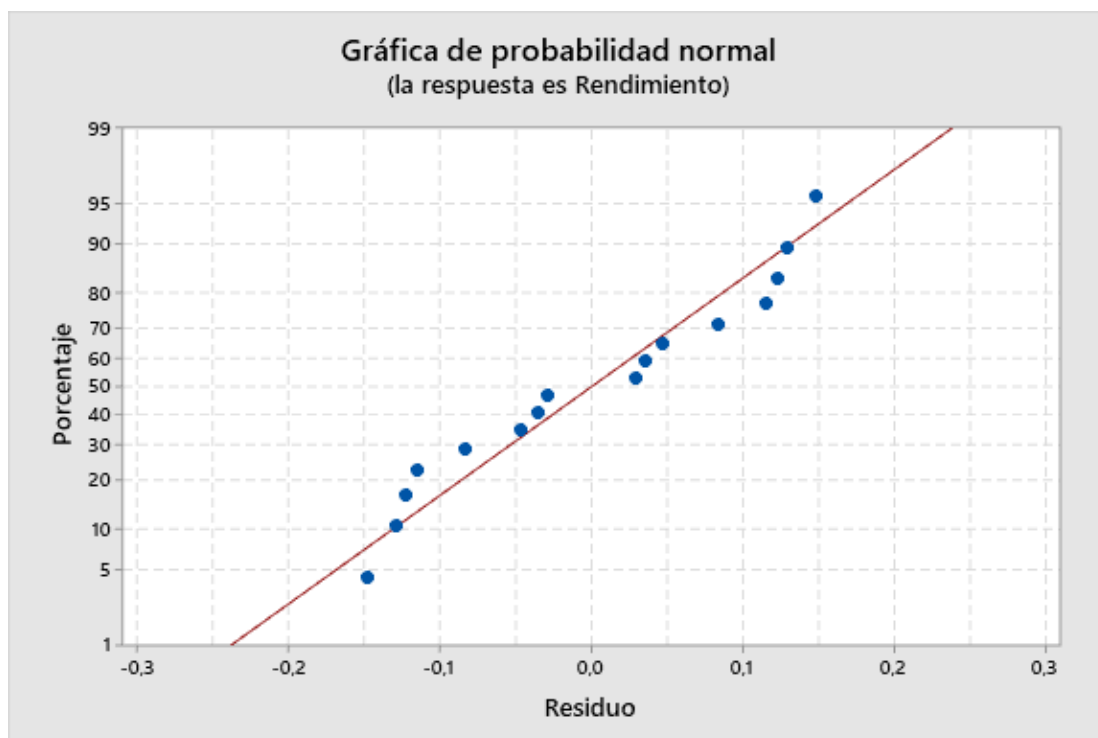


Fuente: Minitab 19, 2021

En la gráfica de efectos principales para rendimiento se visualiza cómo varía la respuesta de acuerdo al cambio de nivel de los factores. En la figura 3-16 se observó que los tres factores: temperatura, pH y tiempo tienen efecto sobre la variable respuesta rendimiento, teniendo un mayor efecto el pH correspondiente al nivel bajo de 1.5 que es el más predominante, es decir, al disminuir el pH se tiene un mayor rendimiento de extracción. Luego la temperatura de hidrólisis con un nivel alto de 80 °C es el segundo más predominante, el aumento de temperatura es directamente proporcional al rendimiento. Con respecto al tiempo de hidrólisis se observa que al aumentar el tiempo de hidrólisis disminuye el rendimiento, y con un nivel bajo de 60 min se obtiene un mayor rendimiento, pero no representa un cambio significativo.

Por lo tanto, la figura 3-16, nos indica que, a un pH menor, una temperatura mayor y un tiempo de hidrólisis menor se obtiene un mayor rendimiento en el proceso de extracción de pectina a partir de la cáscara de limón.

Figura 3-37 Probabilidad normal variable respuesta rendimiento



Fuente: Minitab 19, 2021

En la figura 3-17 se puede observar el modelo escogido y la posición de los puntos respecto al modelo, algunos puntos alejados de la línea implican una distribución con valores atípicos, sin embargo, según el análisis ANOVA de la tabla III-15 no muestra gran significancia el desajuste, motivo por el cual el modelo escogido es correcto.

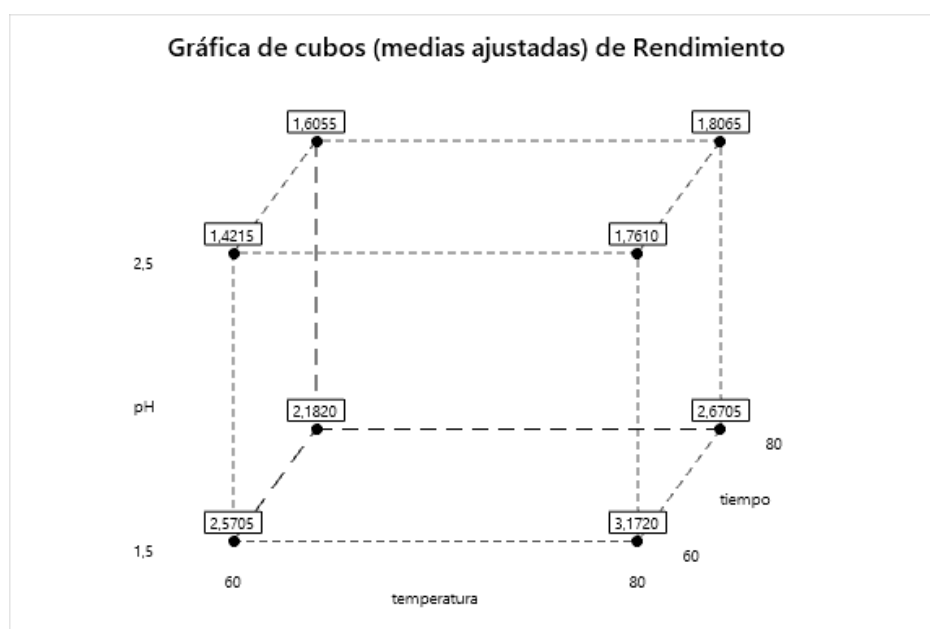
Según el modelo lineal; se obtiene un ajuste, el que a continuación se gráfica junto al rendimiento que fue obtenido de cada experimento, para poder verificar el ajuste de la ecuación al modelo matemático.

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-36
Resultados de la variable respuesta rendimiento

MUESTRA	RENDIMIENTO (%)	AJUSTES	RESIDUOS
1	2.654	2.5705	0.0835
2	3.320	3.172	0.148
3	1.386	1.4215	-0.0355
4	1.877	1.761	0.116
5	2.153	2.182	-0.029
6	2.794	2.6705	0.1235
7	1.476	1.6055	-0.1295
8	1.759	1.8065	-0.0475
9	2.487	2.5705	-0.0835
10	3.024	3.172	-0.148
11	1.457	1.4215	0.0355
12	1.645	1.761	-0.116
13	2.211	2.182	0.029
14	2.547	2.6705	-0.1235
15	1.735	1.6055	0.1295
16	1.854	1.8065	0.0475

Fuente: Minitab 19, 2021

Figura 3-38 Gráfica de cubos (medias ajustadas) del rendimiento



Fuente: Minitab 19, 2021

La figura 3-18, nos permite determinar los factores y en qué nivel obtenemos el mejor rendimiento (%), también se pudo observar y determinar cuál es el peor tratamiento que se le puede dar a la cáscara de limón para tener un rendimiento bajo.

Lo que se puede destacar para obtener un rendimiento óptimo (vértice derecho inferior con un valor promedio de 3.172 %), el cual como indica la gráfica de cubos se tiene que extraer con los valores de: temperatura alta a 80 °C, a un pH bajo de 1.5 y un tiempo de hidrólisis bajo de 60 min.

Además de puede visualizar el peor rendimiento (vértice izquierdo superior) con un valor promedio de 1.422 % de rendimiento con combinaciones de: temperatura baja a 60 °C, un pH alto de 2.5 y un tiempo de hidrólisis bajo de 60 min.

3.7. Evaluación de costos

Para determinar el costo de la investigación se realizó la evaluación de costos directos, que se realizan durante la elaboración de todo el proyecto. Las siguientes tablas muestran los detalles de los costos directos e indirectos.

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**37 Detalle de costos de materia prima y reactivos**

N°	ÍTEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	VALOR UNITARIO (Bs)	CANTIDAD	COSTO (Bs)
1	Materia Prima	Limón	c/u	1	35	35
2	Reactivos para el proceso	Ácido clorhídrico 1N	l	168	1	168
3		Etanol al 96%	l	10	15	150
4		Agua destilada	l	4	40	160
5	Reactivos para análisis	Hidróxido de sodio 0.1 N	l	48	0.15	7.2
6		Hidróxido de sodio 0.25 N	l	48	0.15	7.2
7		Ácido clorhídrico 0.25 N	l	50	0.15	7.5
8		Sacarosa	kg	5	1	5

Total	539.9
--------------	-------

Fuente: Elaboración propia, 2021

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**38 Detalle de costos de materiales empleados en la extracción de pectina**

N°	ÍTEM	DESCRIPCIÓN	VALOR UNITARIO (Bs)	CANTIDAD	COSTO (Bs)
1	Vaso de precipitado	1 000 ml	52	1	52
2	Vaso de precipitado	600 ml	37	1	37
3	Vaso de precipitado	250 ml	32	1	32
4	Probeta de vidrio	100 ml	45	1	45
5	Probeta de vidrio	25 ml	36	1	36
6	Probeta de plástico	250 ml	42	1	42
7	Espátula metálica	Mediana	25	1	25
8	Varilla	Mediana	25	1	25
9	Vidrio reloj	Grande	17	2	34
10	Caja Petri	100 mm	17	2	34
11	Mortero de porcelana	Mediano	42	1	42
12	Cuchillo	Mediano	5	1	5
13	Termómetro de Hg	-10 a 100 ° C	42	1	42
14	Papel filtro	Whatman 42	2	105	210
15	Frasco lavador de plástico	1 000 ml	32	1	32
16	Frasco ámbar de plástico	500 ml	5	5	25
Total					718

Fuente: Elaboración propia, 2021

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**39 Detalle de costos de análisis fisicoquímico de la pectina extraída**

N°	ÍTEM	DESCRIPCIÓN	VALOR UNITARIO (Bs)	CANTIDAD	COSTO (Bs)
1	Materia prima	Ceniza	21	1	21
2		Humedad	12	1	12
3		pH (20 °C)	6	1	6
4		Solidos solubles	15	1	15
5		Ceniza	21	1	21

6	Producto obtenido	Humedad	12	1	12
7		pH (20 °C)	6	1	6
Total					93

Fuente: Elaboración propia, 2021

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-40 Detalle de costos de servicios y materiales directos e indirectos

N°	ACTIVIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO (Bs)	CANTIDAD	COSTO (Bs)
1	Investigación en internet	Mes	154	6	924
2	Impresión	Hoja	0.50	1 500	750
3	Anillados	Anillado	4	12	48
4	Empastados	Empastado	50	4	200
5	Transporte diario	Pasaje	1	150	150
6	Mano de obra	Día	120	75	9 000
Total					11 072

Fuente: Elaboración propia, 2021

La evaluación total de costos se represente en la tabla III-24:

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-41 Detalle de costos totales

N°	DESCRIPCION	TOTAL (Bs)
1	Costos de materia prima y reactivos	539.9
2	Costos de materiales adquiridos	718
3	Costos de análisis	93
4	Costo de servicios y materiales directos e indirectos	11 072
Total		12 422.9

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.8. Costo de producción

A partir de los balances de materia y energía se estimó el costo de producción de la extracción de pectina a partir de la cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*).

De los 100 g de cáscara de limón utilizados se extraen aproximadamente 3.32 g de pectina cítrica.

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-42 Detalle de costos de requerimiento energético

N°	ETAPA	REQUERIMIENTO ENERGÉTICO		
		Energía consumida (kW-h)	Costo unitario (Bs)	Total (Bs)
1	Inactivación enzimática	0.213	0.90	0.192
2	Hidrólisis ácida	0.64	0.90	0.576
3	Primera filtración	0.46	0.90	0.414
4	Segunda filtración	0.345	0.90	0.31
5	Lavado	0.23	0.90	0.207
6	Secado	48	0.90	43.2
Total				44.899

Fuente: Elaboración propia, 2021

Tabla ;Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-43 Detalle de costos de materia prima, reactivos y mano de obra

N°	DESCRIPCION	UNIDAD	PRECIO UNITARIO (Bs)	CANTIDAD	COSTO (Bs)
1	Limón	c/u	1	1	1
2	Agua destilada para lavado	1	4	0.4	1.6
3	Agua destilada para inactivación enzimática	1	4	0.4	1.6
4	Agua destilada para hidrólisis ácida	1	4	0.4	1.6
5	Ácido clorhídrico	1	168	0.02	3.36
6	Etanol al 96 % para precipitación	1	10	0.262	2.62

7	Etanol al 96 % para lavado	1	10	0.2	2
8	Mano de obra	Dia	120	2	240
Total					253.78

Fuente: Elaboración propia, 2021

El costo de producción para extraer pectina a partir de 100 g de cáscara de limón es el siguiente:

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-**44 Detalle de costos de producción**

N°	DESCRIPCIÓN	TOTAL (Bs)
1	Costo de requerimiento energético	44.899
2	Costo de insumos, materia prima, reactivos y mano de obra	253.78
Total		298.679

Fuente: Elaboración propia, 2021

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

1.- Tal como se propuso en el presente trabajo de investigación se logró extraer pectina a partir de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) por el método de hidrólisis ácida convencional utilizando HCl 1 N, el cual se obtuvo un rendimiento del 3.32 g de pectina / 100 g de cáscara de limón.

2.- Se determinaron las condiciones óptimas del proceso de extracción de pectina las cuales son: temperatura de hidrólisis de 80 °C, pH de 1.5 y un tiempo de hidrólisis de 60 min, en la figura 3-16, indica que, a un pH menor, una temperatura mayor y un tiempo de hidrólisis menor se obtuvo un mayor rendimiento en el proceso de extracción de pectina a partir de la cáscara de limón.

3.- El costo de producción para la extracción experimental (a escala laboratorio) de pectina a partir de cáscara de limón (*Citrus limon Burmann*) es de 298.679 Bs (incluye mano de obra) para extraer 3.320 g de pectina cítrica por 100 g de cáscara de limón.

4.- La materia prima (cáscara de limón) que se utilizó en la extracción de pectina por el método de hidrólisis ácida empleando HCl, se consiguió un rendimiento del proceso de 3.320 % $m_{\text{pectina}}/m_{\text{cáscara de limón}}$, este valor es superior al obtenido por (Muñoz P. , 2016) que presentó un rendimiento del 1.15 % $m_{\text{pectina}}/m_{\text{cáscara de plátano}}$ en la extracción de pectina por el método de hidrólisis ácida utilizando ácido cítrico.

5.- La pectina extraída presenta un grado de esterificación o de metoxilación de 81.34 %, por lo tanto, se obtuvo una pectina de alto metoxilo. Este tipo de pectinas requieren de grandes cantidades de azúcar (55 - 85 %), un pH bajo de 2 a 4.5 y elevada temperatura para formar gel con características rígidas y sólidas que los geles de pectinas con bajo metoxilo. El grado de gelificación de la pectina extraída es de 100 °SAG, el cual se demostró una gelificación rápida, es decir, menor a 5 min.

4.2. Recomendaciones

Se recomienda a los estudiantes de la carrera de Ingeniería Química, usando la información generada en el presente proyecto se pueda encarar los siguientes trabajos:

- 1.- Realizar la extracción de pectina por el método de hidrólisis ácida empleando otro reactivo para su extracción como ser: H_2SO_4 , $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, HNO_3 , H_3PO_4 y comparar el rendimiento y las características fisicoquímicas de la pectina extraída.
- 2.- Ampliar el estudio sobre el método de secado de la pectina, para evitar el oscurecimiento del producto, y además de disminuir los costos de consumo energético.
- 3.- Ampliar el estudio para la recuperación del alcohol utilizado en la etapa de precipitación y lavado del producto y así reducir los gastos en el proceso de extracción.
- 4.- Realizar un estudio utilizando frutas cítricas con diferentes estados de madurez, con el fin de determinar cual es el estado que tiene mayor rendimiento de pectina.
- 5.- Con la información proporcionada del presente trabajo de investigación, evaluar la viabilidad económica y técnica para la instalación de una planta piloto para la extracción de pectina en la provincia Cercado, del departamento de Tarija o en los departamentos de mayor producción de limón a nivel nacional, y así poder competir a nivel internacional.
- 6.- Para los análisis de: peso equivalente, acidez libre, grado de esterificación, contenido de metoxilo y ácido anhídrido galacturónico, se debe tener en cuenta el cuidado en la titulación con referencia a la cantidad de NaOH requerida para titular la solución, debido a que errores en este análisis podrían afectar de manera significativa en los resultados.