



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E
INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE ALIMENTOS



Efecto de la variación de esterificación de la pectina en la gelificación de mermeladas

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de investigación, previo a la obtención de título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autora: Gabriela Estefanía Ramos Jaramillo

Tutora: Ing. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

Ambato – Ecuador

Febrero - 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación bajo la opción de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 15 de enero del 2024

Ing. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

C.I. 0604079871

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Gabriela Estefanía Ramos Jaramillo, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas



Gabriela Estefanía Ramos Jaramillo

C.I. 1803754611

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mí Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Gabriela Estefanía Ramos Jaramillo
C.I. 1803754611

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesionales Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para consistencia firman:

Presidente del Tribunal

Dr. Santiago Esmiro Cadena Carrera
1715602593

Dr. Esteban Mauricio Fuentes Pérez
1803321502

Ambato, 06 de febrero de 2024

DEDICATORIA

A todos los que alguna vez han tenido miedo.

Gabriela Ramos Jaramillo.

AGRADECIMIENTO

En la vida, días hay muchos, buenos y malos, pero en cada uno de ellos siempre hay algo importante para uno mismo, y hoy no es la excepción, no solo es la culminación de un ciclo de mi vida, sino que también, es un gran paso delante de la misma.

En primera instancia quiero agradecer a Papá, porque siempre que he recurrido a él de una u otra forma está presente en mis seres amados.

A mis padres, que a pesar de todos los percances y obstáculos a lo largo de toda esta trayectoria me han dado sus consejos, apoyo incondicional y lo más importante, su tiempo. A mis hermanos que en incontables veces estuvieron ahí, conmigo, ya sea para aconsejarme, convivir y bromear, incontables experiencias que terminaron siendo un impulso valioso al final del camino. Sin dejar de lado a mi pequeño Gabrielito, que con su divertida inocencia en estos últimos años me hizo reír al paso del tiempo durante mi etapa universitaria.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por haberme permitido ser parte de su historia académica.

A mi tutora, Ing. Alejandra Sánchez, por su dedicación y esfuerzo para guiarme en esta investigación grandiosa. A la Ing. Cynthia Pico, por su apoyo y tiempo invertido para el desarrollo de este trabajo.

A mi querida “A”, que desde que llegó a mi vida, la hizo mucho más llevadera en todo sentido, incluido esta tesis, entendió que este es un momento muy importante en mi vida profesional y ha sabido apoyarme de la manera correcta.

A cada uno de mis amigos, que, entre tantas emociones vividas, fueron parte de este logro, gracias por las risas y llantos, motivándome y alentándome en el fatigante camino de ser estudiante.

Finalmente quisiera dejar una pequeña frase para motivar a las futuras generaciones dentro de la carrea:

“Lo que tiene que ser será, a su tiempo y en su momento, sólo confía y espera con paciencia su llegada”

Gabriela Ramos Jaramillo.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO I	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Aditivos alimentarios	1
1.1.2. Hidrocoloides en la industria alimentaria	2
1.1.3. Pectina	3
1.1.4. Esterificación de la pectina	4
1.1.5. Residuos agroindustriales a nivel mundial	5
1.1.6. Cítricos	6
1.2. Clasificación taxonómica de los cítricos	7
1.2.2. <i>Citrus latifolia</i>	8
1.2.3. <i>Citrus medica</i>	9
1.2.4. <i>Citrus reticulata</i>	10
1.3. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	11
1.4. Objetivos	12
1.4.1. Objetivo general	12

1.4.2.	Objetivos específicos.....	12
CAPÍTULO II.....		13
2.	METODOLOGÍA.....	13
2.1.	Materiales y equipos.....	13
2.1.1.	Materia prima.....	13
2.2.	Métodos	13
2.2.1.1.	Diseño experimental.....	13
2.2.1.2.	Selección de la materia prima.....	13
2.2.2.	Extracción de pectina por el método convencional.....	14
2.2.3.	Extracción de pectina asistida por microondas	15
2.2.4.	Identificación del porcentaje de esterificación de las pectinas extraídas.....	15
2.2.4.1.	Determinación del porcentaje de esterificación por titulación.....	15
2.2.5.	Descripción del efecto gelificante de las pectinas extraídas mediante un análisis de textura.....	17
2.2.6.	Análisis de textura.....	18
CAPÍTULO III.....		19
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
3.1	Pectina obtenida de cuatro variedades de limón.....	19
3.2	Grado de esterificación de la pectina extraída.....	22
3.3	Efecto gelificante en mermeladas de las pectinas extraídas.....	26
CAPÍTULO IV.....		29
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
4.1.	Conclusiones.....	29
4.2.	Recomendaciones	29
MATERIALES DE REFERENCIA		30
Bibliografía		30
ANEXOS		37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Descripción taxonómica de Citrus limon var. Lisbon</i>	8
Tabla 2 <i>Descripción taxonómica de Citrus latifolia</i>	9
Tabla 3 <i>Descripción taxonómica de Citrus medica</i>	10
Tabla 4 <i>Descripción taxonómica de Citrus reticulata</i>	11
Tabla 5 <i>Formulación base para mermelada de mora</i>	18
Tabla 6 <i>Rendimiento de pectina de 4 variedades de limón y por dos métodos de extracción</i>	19
Tabla 7 <i>Grado de esterificación de la pectina extraída de las variedades de limones C. medica, C. latifolia y C. limon var. Lisbon</i>	25
Tabla 8 <i>Evaluación de los diferentes parámetros de textura</i>	27

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Citrus limon var. Lisbon (limonelo).....	7
<i>Figura 2</i> Citrus latifolia (Sutil)	8
<i>Figura 3</i> Citrus medica.....	9
<i>Figura 4</i> Citrus reticulata (Mandarina)	10
<i>Figura 5</i> Grado de maduración del limón	14
<i>Figura 6</i> Precipitación de la pectina extraída por el método tradicional (A) y asistida por microondas (B) de las variedades de limones 1: Citrus medica, 2: Citrus latifolia, 3: limon var. Lisbon y 4: Citrus reticulata.	20
<i>Figura 7</i> Espectro IR de la pectina comercial.....	22
<i>Figura 8</i> Espectro IR de la pectina extraída de Citrus medica	22
<i>Figura 9.</i> Espectro IR de la pectina extraída de Citrus reticulata.....	23
<i>Figura 10.</i> Espectro IR de la pectina extraída del Citrus latifolia.....	23
<i>Figura 11.</i> Espectro IR de la pectina extraída de Citrus limon var. Lisbon	24

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 (Acidez libre).....	16
Ecuación 2 (Porcentaje de Metoxilo).....	16
Ecuación 3 (Porcentaje de grado de esterificación).....	17

RESUMEN EJECUTIVO

Los desperdicios agroindustriales se vuelven cada vez mayores conforme crece la población, generando preocupación por el impacto ambiental. Se buscan nuevas estrategias para reutilizar desechos valiosos en la industria alimentaria. La investigación se centra en extraer pectina de cuatro variedades de limón (*Citrus limon* var. Lisbon, *Citrus latifolia*, *Citrus medica* y *Citrus reticulata*) debido al alto impacto ambiental de la producción de limones, donde actualmente solo se utiliza la pulpa para fabricar pulpas y concentrados.

La extracción se realizó mediante una hidrólisis ácida convencional y microondas. La pectina extraída fue sometida a análisis mediante Espectroscopia de Infrarrojo por la Transformada de Fourier (FT-IR) y Titulación para determinar su porcentaje de esterificación. Para el efecto de la variación de esterificación de pectinas en la gelificación de mermeladas, se realizó un análisis de textura donde se evaluó dureza, adhesividad y cohesividad.

El método de extracción con mayores rendimientos fue por hidrólisis ácida convencional con 14,9; 13,4; 3,98 y 0,51 por ciento, para cada variedad de limón. Los análisis de FT-IR obtuvieron similitudes en las bandas señaladas por grupos éster metílico, abarcan rangos desde 1737,86 - 1741,72 número de onda, de igual forma los picos detectados en 1020,34 - 1024,20 número de onda, manifiestan vinculación al grupo simétrico C-O-C. La pectina extraída de *Citrus latifolia* presentó mayor porcentaje de esterificación de 99,8 por ciento, sugiriendo que pectinas más esterificadas tienen mejor efecto gelificante en mermeladas. Estos resultados destacan que los residuos de limón son una valiosa fuente de pectina, útil como aditivo alimentario.

Palabras clave: pectina, porcentaje de esterificación, FTIR, aditivos alimentarios.

ABSTRACT

Agroindustrial waste becomes increasingly larger as the population grows, raising concerns about environmental impact. New strategies are being sought to reuse valuable waste in the food industry. The research focuses on extracting pectin from four varieties of lemon (*Citrus limon* var. Lisbon, *Citrus latifolia*, *Citrus medica* and *Citrus reticulata*) due to the high environmental impact of lemon production, where currently only the pulp is used to manufacture pulps and concentrates.

The extraction was carried out by conventional acid hydrolysis and microwaves. The extracted pectin was subjected to analysis by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and Titration to determine its esterification percentage. For the effect of the variation of pectin esterification on the gelation of jams, a texture analysis was carried out where hardness, adhesiveness and cohesiveness were evaluated.

The extraction method with the highest yields was by conventional acid hydrolysis with 14.9; 13.4; 3.98 and 0.51 percent, for each variety of lemon. The FT-IR analyzes obtained similarities in the bands indicated by methyl ester groups, covering ranges from 1737.86 - 1741.72 wave number, likewise the peaks detected at 1020.34 - 1024.20 wave number, show linkage to the C-O-C symmetric group. The pectin extracted from *Citrus latifolia* presented a higher percentage of esterification of 99.8 percent, suggesting that more esterified pectins have a better gelling effect in jams. These results highlight that lemon residues are a valuable source of pectin, useful as a food additive.

Key words: pectin, percentage esterification, FTIR, food additives.

CAPÍTULO I

2. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Aditivos alimentarios

Para el CODEX Alimentarius un aditivo alimentario se lo precisa como

“Cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento por sí misma y que no se utilice normalmente como ingrediente típico del alimento, tenga o no valor nutritivo, cuya adición intencional a los alimentos con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en la fabricación, transformación, preparación, tratamiento, envasado, envasado, transporte o conservación de dichos alimentos, dé como resultado o puede esperarse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) en que él o sus subproductos se conviertan en un componente de dichos alimentos o afecten de otro modo a las características de dichos alimentos”. (FAO/OMS, 2023)

Los aditivos alimentarios desempeñan un papel fundamental en la producción y procesamiento de alimentos, sus propiedades funcionales no solo mejoran las características sensoriales, sino que también contribuyen a prevenir el deterioro, prolongando la vida útil de una amplia variedad de productos alimenticios (**Griffiths & Borzelleca, 2014**). Son un componente esencial, además, se los incorpora premeditadamente en una amplia gama de alimentos, para fines peculiares como es el envasado, transporte, almacenamiento entre otros (**Medhi, Gupta, Dhua & Mishra 2022**).

Se pueden identificar dos roles principales y esenciales de los aditivos la preservación de los alimentos, para hacerlos más seguros para el consumo, y, en segundo lugar, la prevención de la oxidación y otros cambios que puedan ocurrir en el producto. Asimismo, contribuyen a mejorar el sabor y la palatabilidad del

alimento, haciéndolo más agradable al paladar y presentándolo de una manera más aceptable (**Saltmarsh & Insall, 2013**).

Existen seis tipos principales de aditivos alimentarios: conservantes, colorantes, nutricionales, aromatizantes, texturizantes y agentes reguladores de acidez (**Carocho, Morales & Ferreira, 2015**). Las industrias alimentarias hacen uso de alrededor de 25 clases de aditivos, los cuales son seleccionados y empleados conforme a la legislación específica de cada país y en concordancia con las políticas de seguridad alimentaria (**Martins, Sentanin & De Souza, 2019**).

1.1.2. Hidrocoloides en la industria alimentaria

Los hidrocoloides constituyen un conjunto amplio y diverso de materiales poliméricos, principalmente compuestos por polisacáridos y ciertas proteínas (**Lu, Li & Fang, 2021**). Al ser un grupo numeroso de polímeros de cadena larga, tienen la capacidad de dispersarse fácilmente en agua y son total o parcialmente solubles, mostrando una afinidad por expandirse en presencia de agua (**Dick, Dal Magro, Rodrigues, Rios & Flôres, 2019**). Esta característica conduce a modificaciones significativas en las propiedades físicas de las soluciones, permitiendo la formación de geles, emulsiones, recubrimientos y contribuyendo a la estabilización (**Williams & Phillips, 2021**). Por otro lado, estos aditivos tienen su origen en fuentes naturales. Un ejemplo de esto es el agar y la carragenina, los cuales se obtienen a partir de los mariscos. La gelatina, por su parte, se obtiene mediante la hidrólisis de la proteína presente en el ganado vacuno, mientras que la pectina se puede extraer de las cáscaras de cítricos (**Pirsa & Hafezi, 2023**).

Estos compuestos se utilizan en una amplia variedad de productos alimenticios con distintos propósitos. Actúan como espesantes en sopas, salsas y aderezos para ensaladas, así como agentes de retención de agua, estabilizantes y emulsionantes. Además, desempeñan un papel crucial como formadores de gel en la elaboración de mermeladas y jaleas. También, se adaptan para prevenir la formación de cristales de hielo y azúcar en los helados, siendo la pectina y el almidón modificado

componentes fundamentales en aderezos para ensaladas (**Spyropoulos, Lazidis & Norton, 2019**).

1.1.3. Pectina

A principios del siglo XX, la producción de pectina tuvo su origen en los productores alemanes de jugo de manzana. Esto se debió a que implementaron el proceso de cocción del orujo de manzana seco, que era el subproducto principal en la fabricación de dicho jugo (**Ciriminna, Chavarría, Rodríguez & Pagliario, 2015**).

La pectina es un polisacárido altamente complejo compuesto por tres dominios fundamentales que se encuentran unidos covalentemente entre sí, el homogalacturonano, el ramnogalacturonano I y el ramnogalacturonano II. La pectina, debido a sus características distintivas, presenta una cadena lineal de unidades de ácido D-galacturónico fusionadas a α -(1,4), conocidas como dominio de homogalacturonano o también como región lisa de pectina (**Yapo, Lerouge, Thibault & Ralet, 2007**). Además, otra característica primordial en la estructura de la pectina es la presencia repetida de residuos ramnosilo. Estas unidades de D-galacturonopiranosil enlazadas en α -(1,4) pueden ser suprimidas mediante la inclusión de unidades de L-RAMNOPIRANOSIL unidas a α -(1,2), lo que confiere un carácter de ramnogalacturonano tipo I. Este último, principalmente, se une a cadenas laterales compuestas por arabinosa y galactosa. Finalmente, se encuentra el ramnogalacturonano II, que consiste en un oligosacárido altamente ramificado derivado del homogalacturonano II (**Ropartz & Ralet, 2020**).

La pectina, en el ámbito de la industria alimentaria, desempeña diversas funciones que incluyen su papel como agente espesante, emulsionante, estabilizante y, por ende, texturizante. Asimismo, se destaca por su función como gelificante en la elaboración de mermeladas y jaleas, así como su aplicación en la producción de productos lácteos, helados y productos cárnicos emulsionados, entre otros (**Kute, Mohapatra, Kotwaliwale, Gir & Sawant, 2020**). La pectina es un biopolímero que no es tóxico, más aún es biocompatible y biodegradable (**Odun & Reddy, 2023**).

En la actualidad, el 85% de la pectina comercial proviene en su mayoría de la cáscara de cítricos. Para la extracción de pectina, se pueden utilizar tanto cáscaras frescas como secas de cítricos, tales como limón, pomelo o naranja (**Suri, Singh & Nema, 2022**). Las pectinas obtenidas de cítricos y de manzana tienden a ser equivalentes, aunque presentan diferencias sutiles en cuanto a color. Las pectinas extraídas de cítricos suelen tener un tono crema claro o un tostado suave, mientras que las pectinas procedentes de manzanas tienden a ser ligeramente más oscuras (**Ruano et al., 2020**).

Para la extracción comercial de pectina, se somete la materia prima a un tratamiento con un ácido mineral que se diluye en caliente, alcanzando un pH de aproximadamente de 2. La duración de este proceso puede variar según diferentes factores, como el tipo de materia prima, el tipo de pectina requerida y la práctica específica del fabricante (**Sriamornsak, 2003**). Por otro lado, una dieta rica en fibra conlleva beneficios para la salud. La pectina, al ser un componente notable de fibra soluble presente en frutas y verduras, se convierte en un aditivo de especial interés en este contexto (**Willats, Knox & Mikkelsen, 2006**).

Al mismo tiempo, aunque existe una gran diversidad de especies de plantas, las fuentes comerciales de pectina son relativamente limitadas. El orujo de manzana se presenta como la fuente principal de extracción. Sin embargo, en los últimos años, su disponibilidad ha disminuido, principalmente debido al papel fundamental que han asumido los cítricos en este ámbito (**Brejholt, 2010**). La disponibilidad actual de pectina proviene principalmente de la cáscara de cítricos, representando un 85,5% de la producción total, En segundo lugar, se encuentra el orujo de manzana, que contribuye con un 14,0%. Por último, la pulpa de remolacha azucarera aporta cantidades minoritarias, representando tan solo un 0,5% (**Ciriminna et al, 2015**).

1.1.4. Esterificación de la pectina

Durante el proceso de extracción de la pectina con fines comerciales, se remueven la mayoría de las cadenas laterales compuestas por azúcares neutros, que son característicos de los dominios RG-I y RG-II presentes en la pectina natural, en

consecuencia, a la pectina comercial se le denomina 'columna vertebral homogalacturónica' (Zhou et al., 2023). Típicamente, el peso de la pectina comercial está compuesto en más del 70% por ácido galacturónico, dependiendo de la calidad y, por ende, del origen de la pectina. Asimismo, se observa que aproximadamente el 75% de los grupos galacturonanos se encuentran esterificados con metilo (Voragen, Pilnik, Thibault, Axelos & Renard, 1995). El vínculo existente entre los grupos de ácido galacturónico metil esterificado y el total de grupos de ácido galacturónico se conoce como el grado de esterificación de metilo (DE). Existen dos tipos principales de pectina, que se clasifican como 'high methoxyl' (HM) y 'low methoxyl' (LM), que comúnmente poseen un DE que oscila entre el 55% y el 75%, y entre el 20% y el 45%, respectivamente (Brehholt, 2010).

1.1.5. Residuos agroindustriales a nivel mundial

Dentro del proceso de producción agroindustrial, es común la generación de residuos en diversas formas, ya sea en estado sólido, líquido o gaseoso. Estos residuos presentan un alto índice de demanda biológica de oxígeno, lo que da lugar a diversas problemáticas que van desde los costos de recolección hasta la pérdida de valiosas materias primas. En este sentido, la reflexión sobre la contaminación ambiental, en conjunción con los conocimientos científicos, abre la puerta a soluciones para recuperar la mayoría de los productos, los cuales poseen un alto valor y son altamente aprovechables (Panesar, Kaur & Panesar, 2015).

Es una alternativa sumamente evidente y eficaz en este contexto, la aplicación de tecnología de extracción verde. Esta se presenta como una opción viable para obtener los componentes de los residuos agroindustriales. Las técnicas utilizadas en este proceso generan extractos de una calidad y pureza notablemente elevadas (Soquetta, Terra & Bastos, 2018).

La industria alimentaria se enfrenta a uno de sus mayores desafíos, la gestión de las considerables cantidades de residuos generados durante el procesamiento de frutas y verduras. Se requieren inversiones significativas para adecuar y eliminar estos componentes de manera apropiada, con el objetivo de minimizar al máximo los

impactos ambientales (Alatríste, Martínez & Flores, 2019), en consecuencia, los productos derivados de los desechos agroindustriales, como es el caso de las frutas, contienen compuestos notablemente ricos en fenoles, además de otras sustancias bioactivas que pueden conferir propiedades antioxidantes y antimicrobianas a una amplia variedad de alimentos, aportando así beneficios significativos para la salud (Brewer, 2011). Además, el empleo de la materia prima mencionada previamente, permitirá reemplazar a los aditivos sintéticos, presentando así una alternativa coherente. En otras palabras, también aportará compuestos con propiedades funcionales, al tiempo que reducirá el impacto ambiental generado por elementos previamente desechados por la industria, como las semillas y las cáscaras de la fruta (Martin et al., 2012). La correcta gestión de los residuos agroindustriales es esencial para reducir el impacto ambiental y aprovechar valiosos recursos, impulsando así prácticas sostenibles en la industria alimentaria.

La cantidad de desperdicios según la (FAO, 2011) es de 1.3 millones de toneladas métricas, lo cual quiere decir que es alrededor de un tercio de todos los alimentos producidos y destinados para los seres humanos en todo el mundo (Wohner, Pauer, Heinrich & Tacker, 2019). Por otro lado, en Ecuador el desperdicio según la FAO es de 939.00 toneladas métricas por año.

1.1.6. Cítricos

El género que corresponde a la familia de las rutáceas es *Citrus*, el cual se caracteriza por incluir una variedad de frutas cítricas. Además, el término 'cítrico' se utiliza a menudo como un alias para referirse a diversas frutas cítricas (Russo et al., 2021). Los cítricos pertenecen a la jerarquía de frutas no climatéricas, lo que implica que, una vez recolectada la fruta, su calidad no puede mejorar. Por lo tanto, la cosecha debe llevarse a cabo cuando la fruta haya alcanzado su madurez y calidad óptima. En el año 2017, la producción mundial total de cítricos superó los 146 millones de toneladas, destacándose en la categoría de producción de frutas (Pan, Zhang & Zicari, 2019). Por otro lado, los cítricos poseen el puesto número 3 en el mundo, dado que está al alcance de todos para su consumo. Se lo consume de diversas

maneras entre las cuales las que resaltan son jugos y concentrados (Richa et al., 2023).

1.2. Clasificación taxonómica de los cítricos

1.2.1. *Citrus limon* var. Lisbon

El limón (*Citrus limon* var. Lisbon) form parte de la familia de plantas con flores Rutáceas (Tabla 1), su cultivo se da en zonas con climas tropicales y templados, este limón tiene su origen en Portugal, siendo popular en distintos países como Argentina, Uruguay y en estados americanos como California y Arizona. Los limones una vez que han alcanzado la maduración son de color amarillo y de una abundante fragancia, posee una pulpa jugosa y ácida, además, carece de pocas semillas. Lisboa es el resultado de un cruce entre *Citrus aurantium* L. (naranja agria) y la sidra (limón cítrico) (Akhiwu & Adeyemi, 2022).

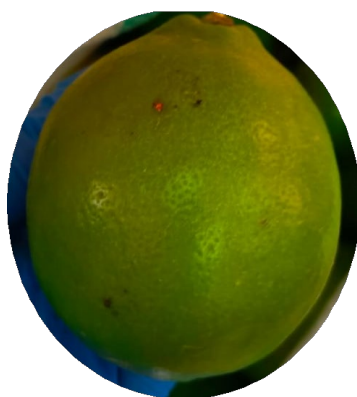


Figura 1. *Citrus limon* var. Lisbon (limonelo)

Tabla 1 Descripción taxonómica de *Citrus limon* var. *Lisbon*

Reino	Plantae
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Orden	Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia	Rutáceas Juss.
Género	<i>Cítricos</i> L.
Nombre científico	<i>Citrus medica</i> L.
Nombre común	Limonero

Adaptado de (Trópicos, 2023)

1.2.2. *Citrus latifolia*

El limón *Citrus latifolia*, también conocido como lima ácida, limón persa, lima Bearss, limón Tahití y sutil, pertenece a la familia de las Rutaceae (Tabla 2), este limón es originario de Asia y los cultivos en la actualidad están presentes en zonas tropicales y subtropicales. Los frutos de esta variedad de limón son de un color verde intenso, su forma puede ser distinta desde ovaladas, oblonga y un tanto elíptica, además, presentan gran acidez y son muy aromáticos (Martínez, López & Orduz, 2020).



Figura 2 *Citrus latifolia* (Sutil)

Tabla 2 Descripción taxonómica de *Citrus latifolia*

Reino	Plantae
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Orden	Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia	Rutaceae Juss.
Género	<i>Citrus</i> L.
Nombre científico	<i>Citrus medica</i> L.
Nombre común	Sutil

Adaptado de (Trópicos, 2023)

1.2.3. *Citrus medica*

El limón *Citrus medica* es un cítrico del cual su conocimiento es el más antiguo; hace 4000 años A.C. Es un árbol pequeño y presenta pequeñas espinas gruesas, flores y frutos de gran tamaño, también puede presentar diversas formas. La corteza tiende a ser lisa, rugosa o puede presentar abolladuras. La pulpa que posee es escasa y con poca pulpa, tiende hacer un poco dulce o ácido, esto depende mucho de la variedad (Ancillo & Medina, 2014). Se lo conoce también como Limón Real.



Figura 3 *Citrus medica*

Tabla 3 Descripción taxonómica de *Citrus medica*

Reino	Plantae
Clase	<u>Equisetopsida C. Agardh</u>
Subclase	<u>Magnoliidae Novák ex Takht.</u>
Orden	<u>Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl</u>
Familia	<u>Rutáceas Juss.</u>
Género	<u>Cítricos L.</u>
Nombre científico	<u><i>Citrus medica</i> L.</u>
Nombre común	Real

Adaptado de (Trópicos, 2023)

1.2.4. *Citrus reticulata*

El limón *Citrus reticulata* perteneciente de la familia Rutaceae (Tabla 4), es un árbol mediano y en su tronco presenta pequeñas espinas, su fruto es redondo y un tanto achatado, además su piel es delgada y con glándulas aceitosas, por otra parte, su pulpa es de color ligeramente anaranjado y cuando está maduro un tanto rojiza. (López & Morales, 2007).



Figura 4 *Citrus reticulata* (Mandarina)

Tabla 4 Descripción taxonómica de *Citrus reticulata*

Reino	Plantae
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Orden	Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia	Rutáceas Juss.
Género	<i>Cítricos</i> L.
Nombre científico	<i>Citrus reticulata</i> Blanco.
Nombre común	Limón mandarina

(Trópicos, 2023)

1.3. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La Espectroscopia Infrarroja por la Transformada de Fourier (FTIR) es una herramienta analítica que permite realizar mediciones en tiempo real, para la evaluación de una amplia gama de materiales. Su utilidad se destaca principalmente en la determinación de sustancias desconocidas, ya sean éstas de naturaleza pura, mezcladas o impuras, así como en la identificación de estructuras de diversos materiales poliméricos y biopoliméricos (Kowalczuk & Pitucha, 2019). La sensibilidad de estos análisis abre las puertas a numerosas aplicaciones en investigación avanzada, abarcando desde polímeros y plásticos hasta productos farmacéuticos y alimentos (Malek, Nakazawa, Kang, Tsuji & Ro, 2019).

La espectroscopia infrarroja es un estudio que se centra en la interacción de la luz infrarroja con la materia. La medida resultante se presenta en forma de un espectro infrarrojo, el cual muestra una gráfica de la intensidad de la onda, también conocida como número de onda de la luz (Jiang et al., 2019). Un aspecto crucial de la espectroscopia infrarroja radica en su capacidad para facilitar la identificación de sustancias desconocidas. Además, contribuye a la confirmación de las identidades, lo cual implica la comparación de los espectros de dos muestras para evaluar si

comparten la misma composición. Asimismo, las intensidades máximas en el espectro infrarrojo son proporcionales a las concentraciones, lo que permite la medición precisa de estas últimas. Cabe destacar que la espectroscopia infrarroja es sensible a la presencia de grupos funcionales químicos dentro de una muestra **(Smith, 2018)**.

Cuando una molécula es expuesta a radiación infrarroja y absorbe la luz, sus enlaces químicos entran en un estado vibratorio. Este fenómeno se manifiesta a través de la capacidad de los enlaces para estirarse, contraerse e incluso doblarse. El movimiento vibratorio resultante de estas interacciones tiende a separar las secuencias de las vibraciones, que son conocidas como modos normales. En otras palabras, cada molécula posee frecuencias específicas a las cuales vibra, lo que significa que cada molécula manifiesta variaciones de frecuencia, siendo únicas debido a su estructura particular **(Smith, 2018)**.

1.4 Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Analizar el efecto de la variación de esterificación de la pectina en la gelificación de mermeladas.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento de la pectina de cuatro variedades de limones: *Citrus limon* var. Lisbon, *Citrus latifolia*, *Citrus medica* y *Citrus reticulata*.
- Identificar el porcentaje de esterificación de las pectinas extraídas mediante el uso de la Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).
- Describir el efecto gelificante de las pectinas extraídas mediante un análisis de textura.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Materiales y equipos

2.1.1. Materia prima

Las cuatro variedades de limón fueron obtenidas en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato. Así como la mora utilizada en la realización de la mermelada.

Los equipos y reactivos utilizados fueron obtenidos en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, mismos que serán detallados en los siguientes apartados de métodos.

2.2. Métodos

2.2.1. Determinación del rendimiento de la pectina de cuatro variedades de limones: *Citrus limon* var. Lisbon, *Citrus latifolia*, *Citrus medica* y *Citrus reticulata*

2.2.1.1. Diseño experimental

Se trabajó con un sistema Bifactorial AxB donde: el factor 1 fue la variedad de limón, el factor 2 fue el método de extracción y la variable de respuesta fue el rendimiento. Se realizaron las pruebas estadísticas según correspondía y se determinó el mayor rendimiento para cada variedad de limón.

2.2.1.2. Selección de la materia prima

El material vegetal seleccionado estuvo completamente libre de hongos, partes en estado de descomposición y cualquier sustancia ajena a la materia prima. Además, se

consideró el nivel de madurez, prefiriendo un estado de ligera inmadurez, siendo el óptimo el número 1 (Fig. 5). Esto se debió a que, en ese estado, la materia prima posee un mayor porcentaje de pectina, un aspecto fundamental tanto para el método convencional como para el procedimiento utilizando microondas (Devia, 2003).



Figura 5 *Grado de maduración del limón*

Fuente: (Arévalo, Parra, Orduz & Orlando, 2016).

2.2.2. Extracción de pectina por el método convencional

La extracción de la pectina por el método convencional fue realizada basándose en el método de (Devia, 2003), con modificaciones.

La materia prima fue lavada y se procedió a retirar el flavedo, es decir, la corteza del fruto, dejando únicamente accesible el albedo. Posteriormente se procedió a picar finamente, luego se llevó a ebullición para la inactivación de enzimas.

El sustrato fue sometido a una cocción en medio ácido, utilizando HNO₃ para acidificar el medio a un pH de 2. El tiempo de calentamiento de la solución fue de 60 minutos, con una temperatura mantenida en el rango de 70 a 80°C con agitación constante. Se utilizó alcohol al 96% para la precipitación de la pectina.

El secado se llevó a cabo en una estufa a temperaturas de aproximadamente de 40°C, con una duración de 12 horas. Una vez cumplido el proceso de secado, se procedió a la homogenización para reducir el tamaño de las partículas y, por ende, la apariencia de la pectina. Se llevó a cabo una molienda, seguida de un tamizado con malla 80. Finalmente, la pectina obtenida fue almacenada en recipientes herméticos.

2.2.3. Extracción de pectina asistida por microondas

La extracción de la pectina por el método asistido por microondas fue realizada basándose en el método de **(Kute, Mohapatra, Babu & Sawant, 2015)**, con modificaciones.

El albedo se cortó en pequeñas proporciones y se procedió a un secado durante 5 horas a una temperatura de 50°C. Se llevó a cabo la molienda obtener la muestra en polvo, y fue almacenada en bolsas herméticas.

Se llevó a cabo utilizando un microondas doméstico convencional, operando a una frecuencia de 2.450 MHz. Se tomaron 5 gramos del polvo previamente obtenido y se colocó en un vaso de precipitación con 150 mL con agua acidificada a un pH de 1,5 y 30 mL de disolvente por cada gramo de muestra. La solución se situó en el microondas sobre un plato giratorio y se expuso a la radiación de microondas, con una potencia de microondas de 630W y un tiempo de irradiación de 89 segundos. Tras el calentamiento, la mezcla en el vaso de precipitación se dejó enfriar y luego se filtró utilizando papel de filtro. Posteriormente, el extracto se centrifugó. La masa de pectina coagulada se lavó con etanol al 96% en tres ocasiones para eliminar monosacáridos y disacáridos. Finalmente, la pectina húmeda se secó a 40°C durante 7 horas **(Kute et al., 2015)**.

2.2.4. Identificación del porcentaje de esterificación de las pectinas extraídas

La determinación del porcentaje de esterificación de las pectinas extraídas se llevó a cabo mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) y por titulación desarrollado por **(Gnanasambandam & Proctor, 2000)**.

2.2.4.1. Determinación del porcentaje de esterificación por titulación

Se toman 500 mg de cada una de las muestras y se las coloca en balones aforados de 25 mL, luego se coloca 5 mL de etanol al 96% solo para humedecer la muestra, después se colocó 100 mL de agua destilada previamente ya fría. En cada muestra se le añadió 3 gotas de fenolftaleína (indicador). Se procedió luego a la titulación hasta ver un cambio de color rosa pálido en cada muestra.

Para la determinación del porcentaje de esterificación por titulación de las pectinas obtenidas, se calculó la acidez libre de la muestra siguiendo la metodología de Owens y colaboradores (Owens et al., 1952). Se calculó vinculando el peso de las muestras (mg) con los miliequivalentes de NaOH gastados en la titulación, con la siguiente ecuación 1

$$\text{Acidez libre (Al)} = \frac{mEq (A) NaOH}{g \text{ componente ácido}}$$

Ecuación 1 (Acidez libre)

Donde:

mEq (A)NaOH: miliequivalentes de NaOH empleados en la titulación

Componente ácido: mg de pectina

Para el porcentaje de metoxilo se empleó la ecuación 2, se agregó NaOH 0,25 mol/L para desesterificar la pectina, luego se añadió 0,25 mol/L de ácido nítrico para neutralizar, después se tituló con NaOH 0,1 ml/L donde se presentó un cambio a color rojizo, que se determina a través de la siguiente formula:

$$\% \text{ de Metoxilo (Me)} = \frac{mEq (B) * PM \text{ metoxilo} * 100}{mg \text{ componente ácido}}$$

Ecuación 2 (Porcentaje de Metoxilo)

Donde:

mEq (B): mEq B de NaOH empleados en la titulación

PM metoxilo: Peso molecular del metoxilo (CH₃O) referido en mg/mEq

Componente ácido: mg de pectina

2.2.4.2. Determinación del grado de esterificación

Para el cálculo del grado de esterificación, se ven relacionados con los mEq B que se gastó en la titulación de la determinación para el porcentaje de metoxilo, sobre la suma total de los mEq A empleados en la titulación para la determinación del peso equivalente y los mEq B, que se determina a través de la siguiente formula:

$$\% \text{ Grado de esterificación } (Ge) = \frac{mEq (B)}{mEq (A) + mEq (B)}$$

Ecuación 3 (Porcentaje de grado de esterificación)

Donde:

mEq (B): mEq empleados de NaOH 0,1 mol/L en la segunda titulación en la determinación del contenido de metoxilo

mEq (A): mEq empleados de NaOH 0,1 mol/L en la primera titulación

(Owens et al., 1952).

2.2.5. Descripción del efecto gelificante de las pectinas extraídas mediante un análisis de textura.

Para la descripción del efecto gelificante de las pectinas obtenidas se realizó una mermelada de mora, siguiendo la metodología y la formulación base propuesta por fulanito y colaboradores (Coronado & Roaldo, 2001).

Se inició con la recepción de la mora, seguido de una selección de la fruta que no cumplía con el índice de madurez. Posteriormente, se llevó a cabo un lavado y desinfección, seguido por un blanqueado de dos minutos a una temperatura de 85°C. Se procedió al despulpado de la fruta, y se realizó la dosificación mostrada en la tabla 5. Se llevó a cabo la cocción a una temperatura superior a los 90°C. Para el envasado, se utilizó una temperatura de 85°C en envases previamente esterilizados.

Finalmente, se dejó enfriar y se almacenó. Se realizó una mermelada por cada pectina obtenida.

Tabla 5 Formulación base para mermelada de mora.

Formulación base para mermelada de mora.

Componentes	Porcentaje [%]
Fruta	45
Azúcar	55
Pectina	0,4
Sorbato de Potasio	0,05

Fuente: **(Coronado & Roaldo, 2001)**.

2.2.6. Análisis de textura

El análisis de textura se llevó a cabo en el laboratorio de Control y Análisis de Alimentos LACONAL, donde se determinaron los siguientes parámetros característicos de textura:

- Dureza (g)
- Adhesividad (mJ)
- Cohesividad (%)

Este análisis se llevó a cabo con el texturómetro BROOKFIELD CT3. Este equipo utilizó datos de compresión y tracción para determinar las propiedades físicas relacionadas con la evaluación sensorial de los alimentos. Las condiciones de operación se controlaron de manera automática, lo que implicó que los datos fueran recopilados, procesados y presentados mediante el software CT denominado 'TexturePro'. Se colocó cada muestra en un recipiente de plástico con una profundidad aproximada de 50 mm, con el fin de asegurar un espesor uniforme para cada muestra a ser analizada. Se utilizó una sonda cilíndrica TA4/1000 con un diámetro de 38 mm para medir la fuerza de compresión **(Alqahtani, Alnemr, Ahmed & Ali, 2022)**.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Pectina obtenida de cuatro variedades de limón

En la Tabla 6 se presentan los resultados correspondientes al rendimiento de la pectina por cada método de extracción. El análisis de varianza ANOVA indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las variedades de limón, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los métodos de extracción.

Tabla 6 Rendimiento de pectina de 4 variedades de limón y por dos métodos de extracción

Rendimiento de pectina de 4 variedades de limón y por dos métodos de extracción

Variedad de Limón (A)	Método de extracción (B)	
	Convencional	Microondas
CM	13,4 ^b	14,1 ^b
CR	0,505 ^d	0,565 ^c
CL	14,9 ^a	14,45 ^a
CLV	3,975 ^c	13,7 ^c

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante el análisis de Tukey ($p < 0,05$).

Se evidencia que la variedad de limón que tuvo el mayor rendimiento fue la variedad *Citrus latifolia* por los dos métodos de extracción con valores superiores al 14%, seguido de la variedad *Citrus medica* con un 13,4%. Las variedades *Citrus reticulata* y *Citrus limon* var. Lisbon presentaron valores muy bajos de rendimiento, siendo la cantidad de pectina del limón *Citrus reticulata* muy baja como para realizar los posteriores análisis, por tal motivo, el análisis del efecto gelificante en mermeladas se realizó con las tres variedades restantes.

Según se evidencia en los resultados del rendimiento, se puede sugerir que la cantidad de pectina presente en los cítricos varía en dependencia de la variedad. Adicionalmente, el grado de madurez del limón es un factor que influye en la cantidad de pectina (Qin, Liu, Cheng & Wang, 2019). En esta investigación las cuatro variedades fueron procesadas bajo el mismo grado de madurez, lo que permite

que esta influencia sea descartada. La pectina del *Citrus reticulata* no pudo ser recuperada del medio de precipitación. El gel formado no fue consistente ni compacto. Se puede inferir que la hidrólisis ácida pudo causar la descomposición irreversible de la estructura de la pectina, rompiendo sus enlaces de manera que la estructura original no puede ser restaurada; esto por un exceso de tiempo o la concentración del ácido utilizada en la hidrólisis pudo ser excesiva, lo que lleva a una fragmentación de la pectina en unidades más pequeñas, haciendo que sea imposible recuperar la pectina en su forma original (Acevedo, 2012).

En la siguiente *Figura 6* se observa la pectina precipitada perteneciente a cada variedad. La precipitación es un proceso crucial para lograr extraer la mayor cantidad de pectina. Durante este proceso los enlaces galacturónicos se eliminan permitiendo que la pectina sea visible y extraíble (Alatríste et al., 2012).

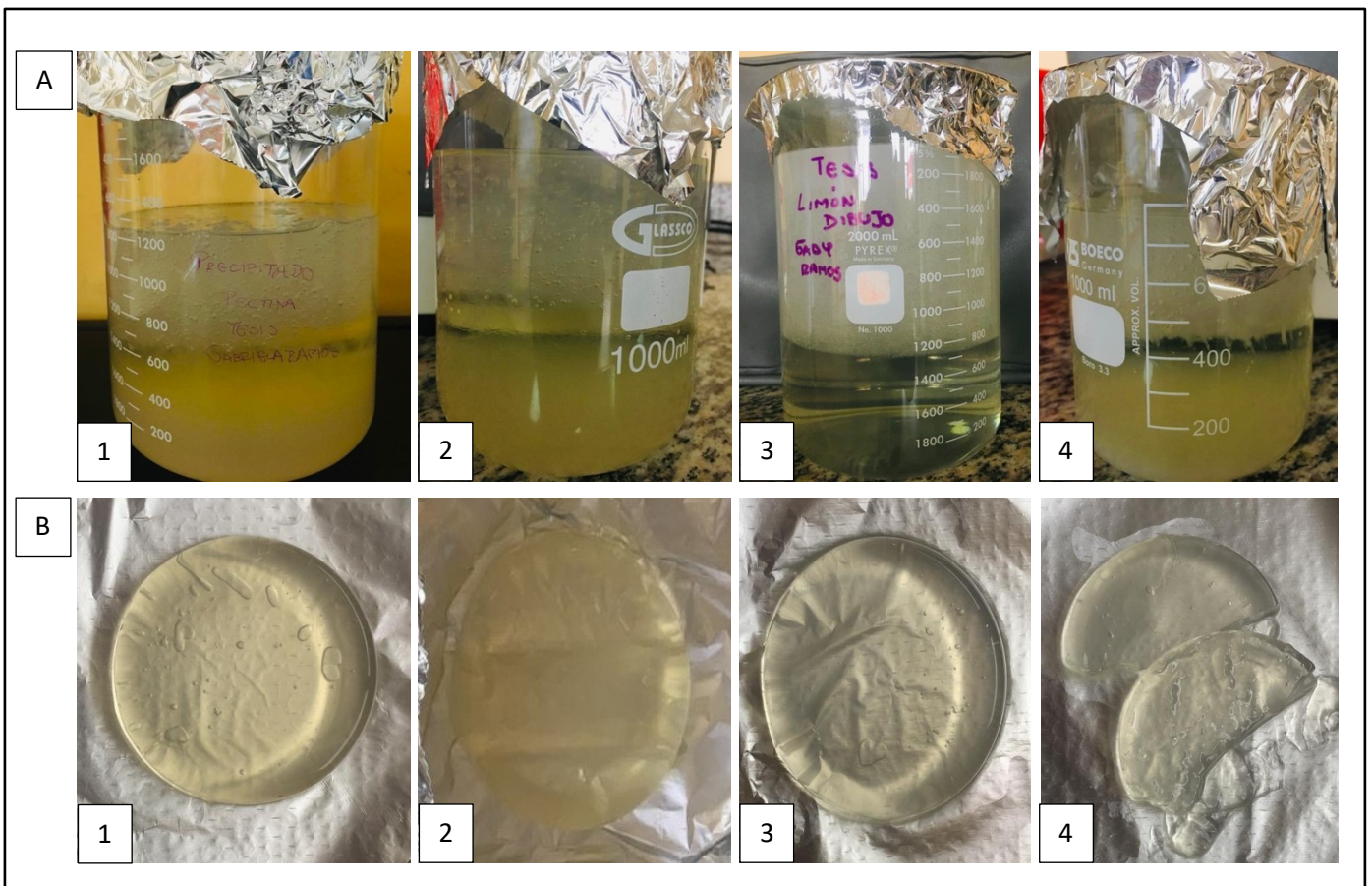


Figura 6 Precipitación de la pectina extraída por el método tradicional (A) y asistida por microondas (B) de las variedades de limones 1: *Citrus medica*, 2: *Citrus latifolia*, 3: limon var. Lisbon y 4: *Citrus reticulata*.

El proceso de hidrólisis ácida para extraer y recuperar la pectina implica la ruptura de los enlaces químicos que conforman la estructura de la pectina. Es un polisacárido complejo compuesto principalmente por unidades de ácido galacturónico y su estructura incluye regiones lineales y ramificadas, que pueden estar enlazadas a otros polisacáridos y proteínas **(Ropartz & Ralet, 2020)** y **(Morales, García & Ladero, 2023)**. Lo que ocurrió durante la hidrólisis ácida fue que el ácido utilizado donó protones (iones H⁺) atacando a los grupos funcionales de la pectina, rompiendo los enlaces éster que mantienen unidas las unidades de ácido galacturónico liberando moléculas de ácido galacturónico más pequeñas **(Chasquibol, Arroyo & Morales, 2008)**. Los fragmentos de pectina liberados durante esta hidrólisis fueron solubles en agua, debido a la naturaleza hidrofílica de las moléculas de pectina, esto permitió que los fragmentos se disuelvan en el medio de reacción y luego de la neutralización del medio ácido para detener la reacción, la pectina pudo ser extraída de un precipitado gelatinoso.

La extracción de pectina por el método de microondas generó rendimientos similares al método convencional. No obstante, este método es menos demorado optimizando el tiempo de extracción. Las microondas son ondas electromagnéticas que generan calor al interactuar con las moléculas polares, como el agua y ciertos componentes celulares **(Cui, Yeon & Zhu, 2022)**. En la extracción de pectina, las microondas penetran en el material vegetal y calientan selectivamente las regiones ricas en agua y pectina, lo que resulta en un aumento de la temperatura, esto permite activar enzimas pectinolíticas y facilita la liberación de la pectina **(Mao, Robinson & Binner, 2023)**. Se puede sugerir entonces, que la combinación de calor y acción enzimática ayudó a debilitar las paredes celulares, permitiendo que la pectina se libere más fácilmente. Sin embargo, se considera esencial optimizar las condiciones de extracción, como la potencia de microondas, la duración y la temperatura, para obtener un rendimiento máximo de pectina sin afectar negativamente sus propiedades.

3.2 Grado de esterificación de la pectina extraída

Las pectinas extraídas analizadas por FTIR muestran los siguientes espectros. Se analizaron las pectinas obtenidas por el método convencional y una pectina comercial.

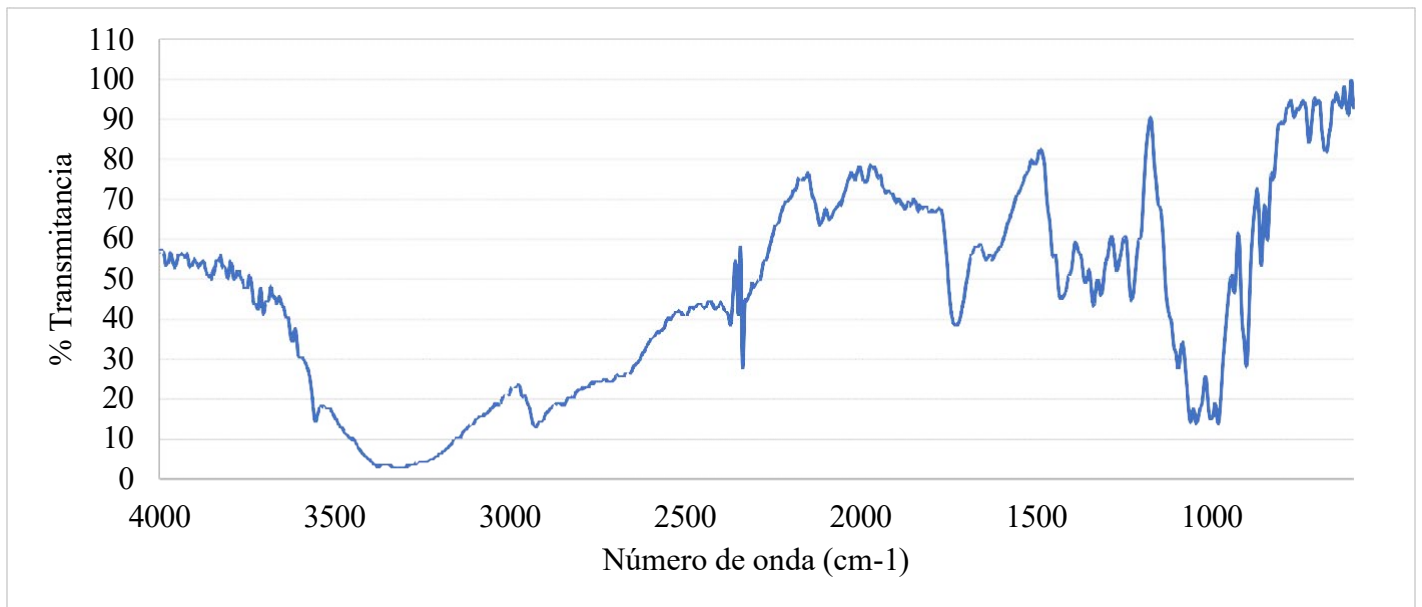


Figura 7 Espectro IR de la pectina comercial

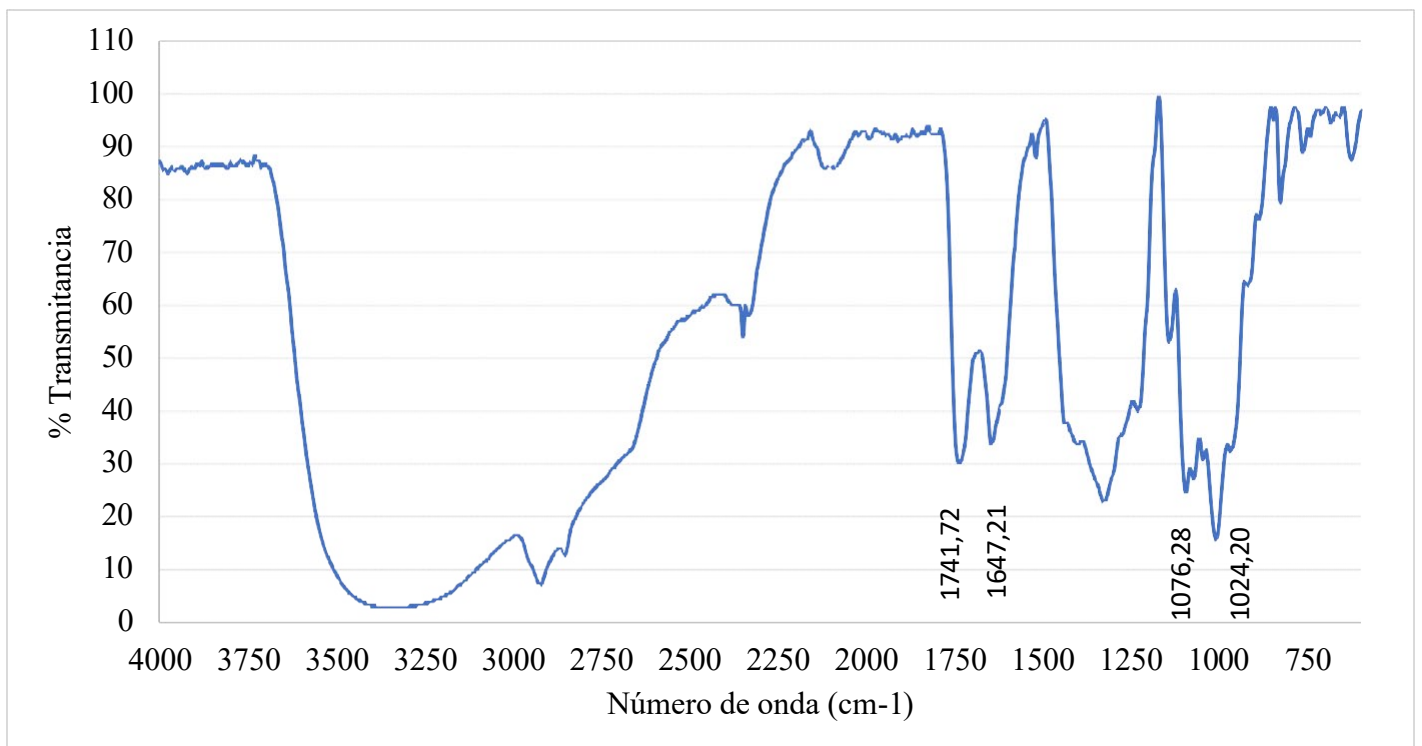


Figura 8 Espectro IR de la pectina extraída de Citrus medica

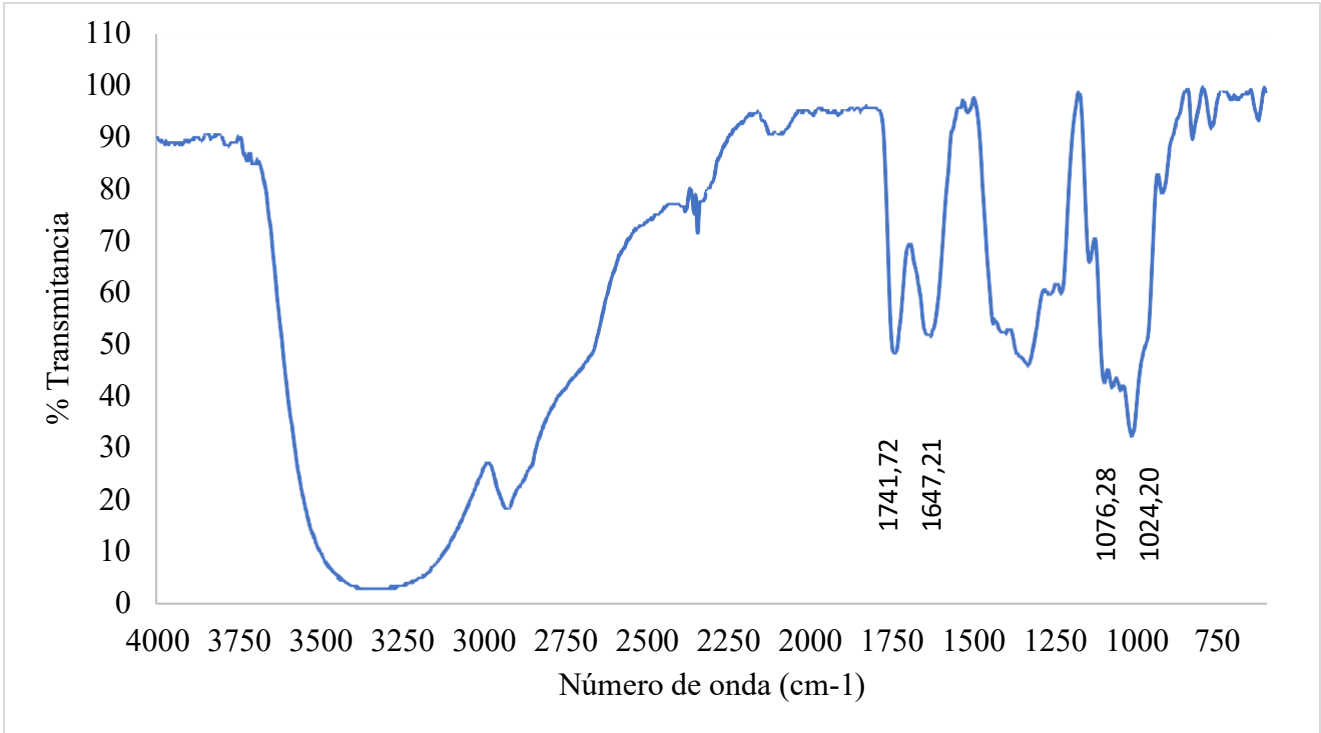


Figura 9. Espectro IR de la pectina extraída de Citrus reticulata

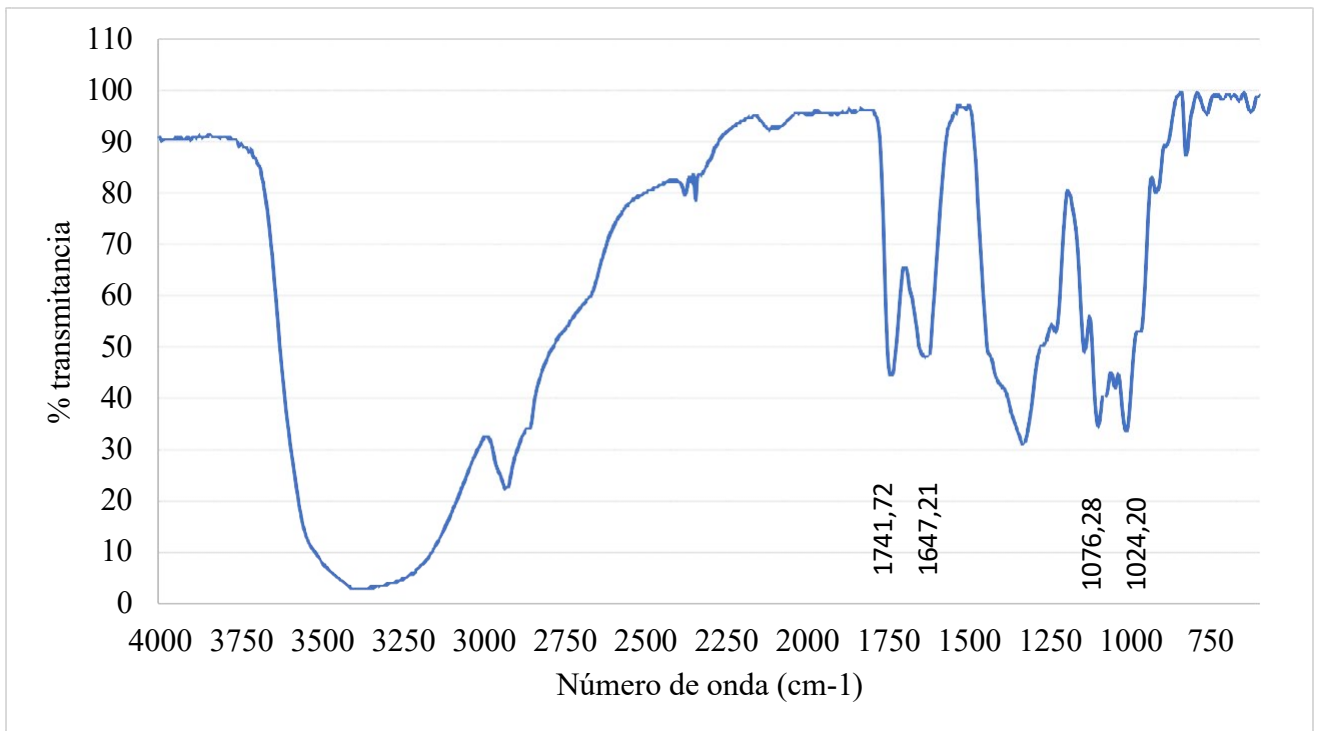


Figura 10. Espectro IR de la pectina extraída del Citrus latifolia

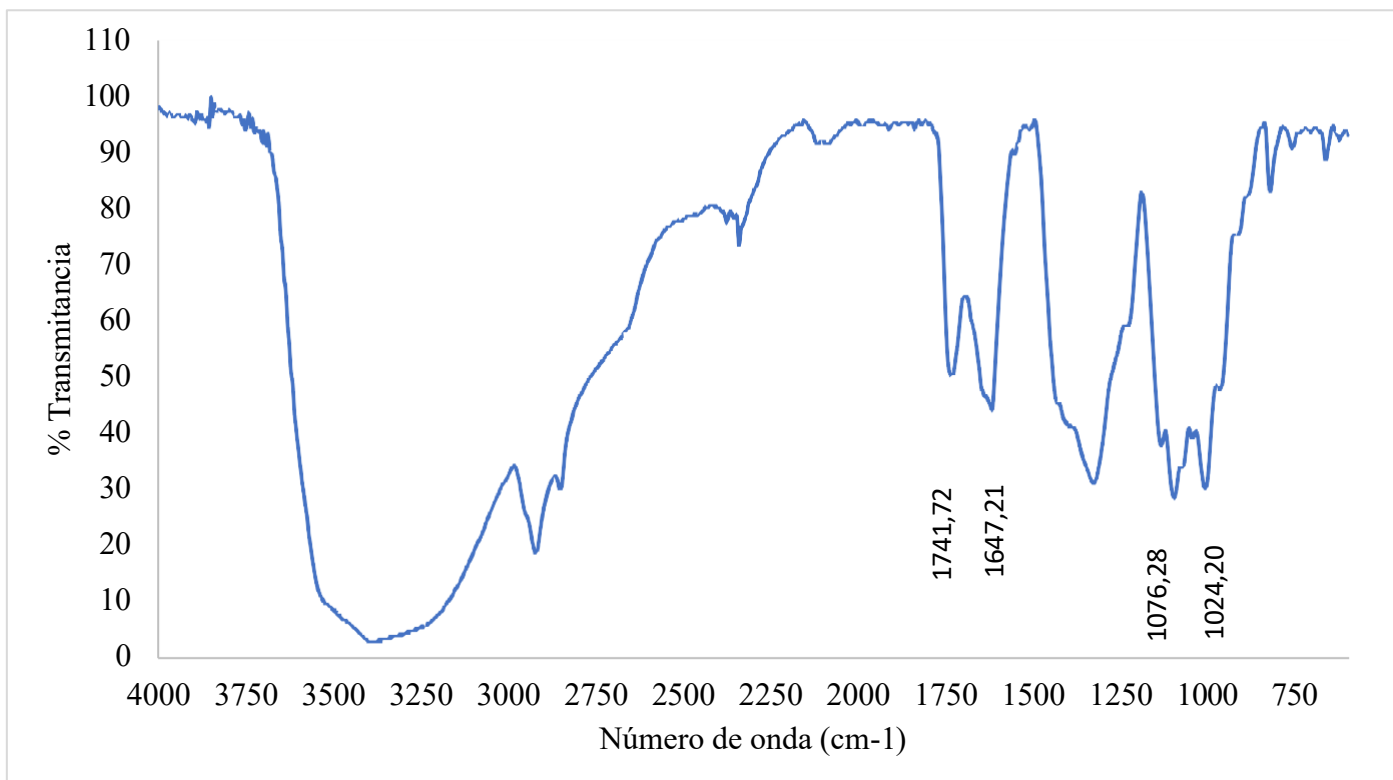


Figura 11. Espectro IR de la pectina extraída de Citrus limon var. Lisbon

El espectro de la pectina debe tener varios indicativos, correspondientes a los grupos funcionales presentes en la molécula. Inicialmente, se observan varios picos o bandas de absorción, las cuatro pectinas extraídas presentan el mismo patrón de bandas y coinciden con el espectro de la pectina comercial.

Se destacan la banda de estiramiento de O-H entre $3300-3500\text{ cm}^{-1}$, esta banda se debe al estiramiento de los grupos hidroxilo (OH) presentes. La presencia de agua también puede contribuir a esta banda (Musita, 2021). Se observan también bandas de estiramiento de los enlaces C-H en grupos metilo (CH_3) y metileno (CH_2) entre $2800-3000\text{ cm}^{-1}$. La banda alrededor de 1730 cm^{-1} está asociada con el estiramiento del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) en los enlaces éster presentes en la pectina. Se observa también una banda de Flexión de C-H entre $1410-1460\text{ cm}^{-1}$, que pueden provenir de grupos metilo y metileno (Ahmed et al., 2023) y la región de $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ incluyen bandas asociadas con el estiramiento de los enlaces C-O-C en la estructura de la pectina. Finalmente, la región comprendida entre $500-1500\text{ cm}^{-1}$ se considera como una “huella dactilar” ya que contiene patrones complejos

que pueden proporcionar información específica sobre la estructura de la pectina (Kalisz et al., 2021).

El grado de esterificación de una pectina está relacionado con el área del ester carbonil, ubicado entre 1630 cm^{-1} y 1750 cm^{-1} , esto indica la presencia de los grupos carboxilos libres y esterificados, permitiendo identificar pectinas de alto metoxilo (HM) y bajo metoxilo (LM) (Chasquibol et al., 2008). La investigación de Ibarra y colaboradores menciona que las bandas que señala los grupos ester metílico va desde $1737,86\text{ cm}^{-1}$ y $1741,72\text{ cm}^{-1}$ lo cual se corrobora en este estudio (Ibarra, Ordoñez & Ortiz, 2022).

Por otra parte, los picos $1020,34\text{ cm}^{-1}$ y $1024,20\text{ cm}^{-1}$ señalan la región asociada al grupo C-O-C (Ibarra et al., 2022), como resultado, la presencia de estas regiones afirman que hay un alto grado de esterificación y por ende la existencia de pectinas de alto grado de metoxilo (HM) en las 4 variedades de limones.

En la siguiente tabla 7, se presentan los resultados correspondientes a la determinación por titulación del porcentaje de esterificación de la pectina extraída de las variedades de limones.

Tabla 7 Grado de esterificación de la pectina extraída de las variedades de limones *C. medica*, *C. latifolia* y *C. limon var. Lisbon*

Grado de esterificación de la pectina extraída de las variedades de limones *C. medica*, *C. latifolia* y *C. limon var. Lisbon*.

Muestra	*PE (mg/mEq)	*AL (mEq/mg)	*%ME	*%GE	*mEq NaOH
<i>C. medica</i>	8,33	0,12	52,37	99,76	50,75
<i>C. latifolia</i>	5000	0,0002	0,103	99,8	0,1
<i>C. limon var. Lisbon</i>	5000	0,0002	27,1	99,62	26,26

*PE: Peso equivalente; *AL: Acidez libre; *ME: Metoxilo; *GE: Grado de Esterificación; *mEq NaOH: mEq gastados en la titulación

Se clasifican como pectinas de alto contenido de metoxilo aquellas que poseen valores de metoxilos superiores al 7% y grados de esterificación mayores al 50% (Khan & Nandkishor, 2019), se puede observar que la pectina de *Citrus latifolia* presenta un porcentaje bajo de metoxilo, seguido de la pectina de *C. limon var. Lisbon* y *C. medica* con el valor más alto. Por otro lado, el porcentaje de

esterificación de las tres pectinas es del 99%, permitiendo inferir que son pectinas HM.

El porcentaje de metoxilo y el porcentaje de esterificación son términos asociados en la caracterización de la pectina, y están relacionados con la cantidad de grupos metilo y grupos éster en su estructura, específicamente en los grupos ácido galacturónico que la componen **(Zainudin, Wong & Hamdan, 2020)**.

El porcentaje de metoxilo se refiere a la proporción de grupos metilo (CH₃) con respecto al número total de unidades de ácido galacturónico en la pectina. La pectina puede ser clasificada en función de su grado de esterificación, siendo pectinas de baja metoxilación (LM) aquellas con un bajo porcentaje de metoxilo y pectinas de alta metoxilación (HM) aquellas con un alto porcentaje de metoxilo **(Pattarapisitporn, Noma, Klangpetch, Demura & Hayashi, 2024)**. La relación entre el porcentaje de metoxilo y el porcentaje de esterificación es importante para comprender la naturaleza y las propiedades de la pectina. Una pectina altamente metilada tendrá un alto porcentaje de metoxilo y un bajo porcentaje de esterificación, mientras que una pectina poco metilada tendrá un bajo porcentaje de metoxilo y un alto porcentaje de esterificación **(Sharma, Naresh, Dhuldhoya, Merchant & Merchant, 2006)**, como se evidencian en los resultados de esta investigación. Estas características afectan las propiedades físicas y funcionales de la pectina, como su capacidad para formar geles o interactuar con otras sustancias en aplicaciones industriales y alimentarias **(Said et al., 2023)**.

3.3 Efecto gelificante en mermeladas de las pectinas extraídas

En la siguiente tabla 8, se presentan los resultados correspondientes a los análisis de textura en la mermelada de mora con las pectinas extraídas de las 3 variedades de limones.

Tabla 8 Evaluación de los diferentes parámetros de textura

Evaluación de los diferentes parámetros de textura

Tratamientos	Dureza (g)	Adhesividad (J)	Cohesividad (mJ)
MCL	38,54	0,337	0,71
MCM	20,4	0,0005	0,58
MCV	15,8	0,0003	0,49

MCL (mermelada *Citrus latifolia*), MCM (mermelada *Citrus medica*) y MCV (mermelada *Citrus limon* var. Lisbon).

La dureza de una mermelada está influenciada por varios factores, y la esterificación de la pectina en la mermelada puede tener un impacto significativo a nivel molecular. La esterificación de la pectina en la mermelada afecta la capacidad de formar geles y la estructura tridimensional de la red de pectina, lo que a su vez influye en la textura y la dureza del producto final (Palacios, Chamorro, Almeida & Carrillo, 2019).

La formación de geles en mermeladas y productos similares se basa en la capacidad de las pectinas de gelificar en presencia de pH bajos. La esterificación puede afectar esta capacidad, mientras más esterificadas se generan geles más fuertes y resistentes a la descomposición (Lara, Carvajal, Balandrán, López & Rascón, 2018). Los resultados de dureza se explican basado en que un porcentaje alto de esterificación puede afectar las interacciones moleculares de la pectina (Guimarães, Alves, Querido, Castillo & De Moraes, 2023); una pectina altamente esterificada del 99%, como la de este estudio, puede tener una menor tendencia a formar enlaces cruzados fuertes entre cadenas, lo que podría influir en la estructura de la red de gel y como consecuencia se ve afectada la retención de agua (Cui, Chen & Zhang, 2023).

Los valores para adhesividad y cohesividad permiten inferir que la pectina con alta esterificación del 99% no produce geles adherentes. La adhesividad puede estar relacionada con la capacidad para adherirse a superficies, como pan, galletas, u otros alimentos (Frabetti, de Morales, Jury, Boillereaux & Laurindo, 2021). Una textura más firme y menos fluida, asociada a un mayor grado de esterificación, puede afectar cómo la mermelada se adhiere a estos alimentos.

Estos resultados permiten inferir entonces que, mermeladas con un alto grado de esterificación pueden tener una consistencia más rígida y menos propensa a extenderse de manera uniforme, mientras que aquellas con un bajo grado de esterificación pueden tener una consistencia más suave y untuosa.

No se puede definir un valor óptimo de esterificación, todo depende del tipo de producto que se vaya a realizar. Factores como la concentración de pectina, el pH, la proporción de azúcares, la fruta utilizada y las preferencias del consumidor son elementos clave a considerar al determinar el grado de esterificación más adecuado para obtener la textura y consistencia deseadas en la mermelada final (**Gawkowska, Cybulska & Zdunek, 2018**).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- El rendimiento de la extracción de pectina de cuatro variedades de limón y por dos métodos de extracción mostró al limón sutil (*Citrus latifolia*) con el mayor porcentaje de rendimiento con 14,9% para el método convencional y 14,45% para el método de microondas, siendo la variedad que más pectina posee.
- Las pectinas extraídas por el método convencional para cada variedad poseen un alto grado de esterificación (HM) con un valor del 99%, no obstante, este porcentaje también influye en la calidad afectando sus propiedades físicas, además de su capacidad para formar geles.
- El porcentaje de esterificación (DE) es fundamental, pues afecta las propiedades físicas de los alimentos como la textura, viscosidad; por lo que si aumenta este porcentaje habrá diferencias notorias en la textura de los alimentos.

4.2. Recomendaciones

- Trabajar con pH menores de 2 ya que esto ayuda a una mejor solubilidad de la pectina, mejor gelificación y la inhibición de enzimas no deseadas.
- Comparar los resultados obtenidos en esta investigación con una pectina que se haya extraído de otra fuente, con el objetivo de contrarrestar la eficiencia en la producción de mermeladas.
- Ensayar reacciones que reduzcan el porcentaje de esterificación para evaluar el efecto en la capacidad gelificante de mermeladas cuando se ha disminuido su DE.

MATERIALES DE REFERENCIA

Bibliografía

- Acevedo, M. (2012). *Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano, para desarrollar un diseño general del proceso de producción.*
- Ahmed, Md. S., Maniruzzaman, Md., Al-Mamun, Md. R., Ali, M. A., Badal, Md. M. R., Aziz, Md. A., Jafar Mazumder, M. A., Hakeem, A. S., & Yousuf, M. A. (2023). Jute Stick-Derived Cellulose-Based Hydrogel: Synthesis, Characterization, and Methylene Blue Removal from Aqueous Solution. *ACS Omega*, 8(50), 47856–47873. doi: 10.1021/acsomega.3c06349
- Akhiwu, B., & Adeyemi, O. (2022). *Effects of Poultry Manure on The Growth of Lisbon Lemon (Citrus limon; var. Lisbon).* doi:10.33552/SJBLS.2022.02.000540
- Alatraste, I., Martinez, D., & Flores, F. (2012). Extracción de pectina a partir de lima persa (*Citrus Latifolia Tanaka*) de primera calidad. *Congreso Internacional De Investigacion*, 4(3).
- Ancillo, G., & Medina, A. (2014). *Los Cítricos.*
- Arévalo, A., Parra-coronado, Pedro R, Orduz-rodríguez, A., & Orlando Javier. (2016). Postharvest physicochemical characterization of different materials of Tahiti acid lime (*Citrus latifolia Tanaka*) for exports. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 10(2).
- Brejnholt, S. (2010). *Pectin. In Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* (pp. 237–265). Blackwell Pub.
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4). doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Natural food additives: Quo vadis? In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 45, Issue 2). doi: 10.1016/j.tifs.2015.06.007
- Chasquibol-Silva, N., Arroyo-Benites, E., & Morales-Gomero, J. C. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 0(026). doi: 10.26439/ing.ind2008.n026.640

- Ciriminna, R., Chavarría-Hernández, N., Inés Rodríguez Hernández, A., & Pagliaro, M. (2015). Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 9(4). doi: 10.1002/bbb.1551
- Coronado, M., & Roaldo, H. (2001). Elaboracion de mermeladas. *Procesamiento de Alimentos Para Pequeñas y Micro Empresas Agroindustriales*, 1–3.
- Cui, R., Yeon Yoo, M. J., & Zhu, F. (2022). Comparison of microwave and conventional heating on physicochemical properties and phenolic profiles of purple sweetpotato and wheat flours. *Food Bioscience*, 46. doi:10.1016/j.fbio.2022.101602
- Cui, Y., Chen, J., & Zhang, S. (2023). The effect of degree of esterification of pectin on the interaction between pectin and wheat gluten protein. *Food Hydrocolloids*, 136, 108272. doi: 10.1016/j.foodhyd.2022.108272
- Devia, J. E. (2003). Proceso para producir Pectinas Cítricas. In *REVISTA Universidad EAFIT*.
- Dick, M., Dal Magro, L., Rodrigues, R. C., Rios, A. de O., & Flôres, S. H. (2019). Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126
- FAO. (2011). *Global Food Losses*.
- FAO/OMS. (2023). *Definitions for the purposes of the codex alimentarius*.
- Frabetti, A. C. C., de Moraes, J. O., Jury, V., Boillereaux, L., & Laurindo, J. B. (2021). Adhesion of Food on Surfaces: Theory, Measurements, and Main Trends to Reduce It Prior to Industrial Drying. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 884–901. doi: 10.1007/s12393-021-09286-9
- Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. *Polymers*, 10(7), 762. doi: 10.3390/polym10070762
- Gnanasambandam, R., & Proctor, A. (2000). Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 68(3). doi: 10.1016/S0308-8146(99)00191-0
- Griffiths, J., & Borzelleca, J. (2014). *Food Additives*. 622–627. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123864543003>

869?via%3Dihub

- Guimarães, D. H. P., Alves, G. L., Querido, A. F., Castillo, P. F. A., & de Moraes Gomes Rosa, M. T. (2023). Physical, Chemical and Rheological Properties of Blueberry Jam. *Smart Innovation, Systems and Technologies, 207 SIST*. doi: 10.1007/978-3-031-04435-9_44
- Ibarra, J. P., Ordoñez, A., & Ortiz, I. A. (2022). *Obtención de pectina a partir del albedo de maracuyá y limón tahití a través de hidrólisis química*.
- Jiang, J., Yang, W., Cheng, Y., Liu, Z., Zhang, Q., & Zhao, K. (2019). Molecular structure characterization of middle-high rank coal via XRD, Raman and FTIR spectroscopy: Implications for coalification. *Fuel, 239*, 559–572. doi: 10.1016/j.fuel.2018.11.057
- Kalisz, G., Gieroba, B., Chrobak, O., Suchora, M., Starosta, A. L., & Sroka-Bartnicka, A. (2021). Vibrational spectroscopic analyses and imaging of the early middle ages hemp bast fibres recovered from lake sediments. *Molecules, 26*(5). doi: 10.3390/molecules26051314
- Khan, M., & Nandkishor. (2019). Optimization of Extraction Condition and Characterization of Low Methoxy Pectin From Wild Plum. *Journal of Packaging Technology and Research, 3*(3). doi: 10.1007/s41783-019-00070-z
- Kowalczyk, D., & Pitucha, M. (2019). Application of FTIR method for the assessment of immobilization of active substances in the matrix of biomedical materials. *Materials, 12*(18). doi: 10.3390/ma12182972
- Kute, A., Mohapatra, D., Babu, B., & Sawant, B. P. (2015). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel using response surface methodology. *Journal of Food Research and Technology, 3*(2).
- Kute, A., Mohapatra, D., Kotwaliwale, N., Giri, S. K., & Sawant, B. P. (2020). Characterization of Pectin Extracted from Orange Peel Powder using Microwave-Assisted and Acid Extraction Methods. *Agricultural Research, 9*(2). doi: 10.1007/s40003-019-00419-5
- Lara, C., Carvajal, E., Balandrán, R., López, Y., & Rascón, A. (2018). Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. *Molecules, 23*(4), 942. doi: 10.3390/molecules23040942
- López, J., & Morales, J. (2007). *Manual técnico aspectos básicos para el cultivo de*

la mandarina Citrus reticulata.

- Lu, W., Li, X., & Fang, Y. (2021). Introduction to Food Hydrocolloids. In *Food Hydrocolloids* (pp. 1–28). Springer Singapore. doi: 10.1007/978-981-16-0320-4_1
- Malek, M. A., Nakazawa, T., Kang, H. W., Tsuji, K., & Ro, C. U. (2019). Multi-modal compositional analysis of layered paint chips of automobiles by the combined application of ATR-FTIR imaging, raman microspectrometry, and SEM/EDX. *Molecules*, 24(7). doi: 10.3390/molecules24071381
- Mao, Y., Robinson, J. P., & Binner, E. R. (2023). Current status of microwave-assisted extraction of pectin. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 473). doi: 10.1016/j.cej.2023.145261
- Martin, J. G. P., Porto, E., Corrêa, C. B., Alencar, S. M. De, Gloria, E. M. Da, Ribeiro, I. S., & Cabral, L. M. D. A. (2012). Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. *Journal of Natural Products*, 5.
- Martínez, F., López, H., & Orduz, O. (2020). *Capítulo I Generalidades del cultivo, descripción botánica, variedades y fenología de la lima ácida Tahití.*
- Martínez, L., Bastida, P., Castillo, J., Ros, G., & Nieto, G. (2019). Green alternatives to synthetic antioxidants, antimicrobials, nitrates, and nitrites in clean label Spanish Chorizo. *Antioxidants*, 8(6). doi: 10.3390/antiox8060184
- Martins, F. C. O. L., Sentanin, M. A., & De Souza, D. (2019). Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. In *Food Chemistry* (Vol. 272). doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.060
- Medhi, M., Gupta, A. K., Dhua, S., & Mishra, P. (2022). Food Additives. In *Advances in Food Chemistry: Food Components, Processing and Preservation* (pp. 255–292). doi: 10.1007/978-981-19-4796-4
- Morales, P. C., García-Martín, A., & Ladero, M. (2023). Pectooligosaccharides rich in galacturonic acid produced from Orange Processing Waste by autohydrolysis: Process optimization and kinetic analysis. *Bioresource Technology Reports*, 21. doi: 10.1016/j.biteb.2023.101369
- Musita, N.-. (2021). Characteristics of Pectin Extracted from Cocoa Pod Husks. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 37(1). doi: 10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v37i1.428

- Odun, F., & Reddy, L. (2023). Potential Biomedical Applications of Modified Pectin as a Delivery System for Bioactive Substances. *Polysaccharides*, 4(1). doi: 10.3390/polysaccharides4010001
- Owens, H., McCreedy, R., Shepherd, A., Miers, J., Arlandsed, R., & Maclay, W. (1952). *Methods used at western regional research laboratory for extraction and analysis of pectic materials*.
- Palacios, T., Chamorro, S., Almeida, C., & Carrillo, I. (2019). Diseño de una planta piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja. (Citrus Sinensis). *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, 1(2), 11–17. doi: 10.29166/revfig.v1i2.1274
- Pan, Z., Zhang, R., & Zicari, S. (2019). Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products. In *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. doi: 10.1016/C2017-0-00901-1
- Panesar, R., Kaur, S., & Panesar, P. S. (2015). Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: A review. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 1, Issue 1). doi: 10.1016/j.cofs.2014.12.002
- Pattarapisitporn, A., Noma, S., Klangpetch, W., Demura, M., & Hayashi, N. (2024). Extraction of citrus pectin using pressurized carbon dioxide and production of its oligosaccharides. *Food Bioscience*, 57, 103584. doi: 10.1016/j.fbio.2024.103584
- Pirsa, S., & Hafezi, K. (2023). Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. In *Food Chemistry* (Vol. 399). doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133967
- Qin, Z., Liu, H. M., Cheng, X. C., & Wang, X. De. (2019). Effect of drying pretreatment methods on structure and properties of pectins extracted from Chinese quince fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.209
- Richa, R., Kohli, D., Vishwakarma, D., Mishra, A., Kabdal, B., Kothakota, A., Richa, S., Sirohi, R., Kumar, R., & Naik, B. (2023). Citrus fruit: Classification, value addition, nutritional and medicinal values, and relation with pandemic and hidden hunger. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14. doi: 10.1016/j.jafr.2023.100718
- Ropartz, D., & Ralet, M.-C. (2020a). Pectin Structure. In *Pectin: Technological and*

- Physiological Properties* (pp. 17–36).
- Ropartz, D., & Ralet, M.-C. (2020b). Pectin Structure. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 18–18). Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-030-53421-9
- Ruano, P., Lazo Delgado, L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Eduardo Aguilera Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., & Masuelli, M. (2020). Extraction and Characterization of Pectins From Peels of Criolla Oranges (*Citrus sinensis*): Experimental Reviews . In *Pectins - Extraction, Purification, Characterization and Applications*. doi: 10.5772/intechopen.88944
- Russo, C., Maugeri, A., Lombardo, G. E., Musumeci, L., Barreca, D., Rapisarda, A., Cirmi, S., & Navarra, M. (2021). The second life of citrus fruit waste: A valuable source of bioactive compounds†. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 19). doi: 10.3390/molecules26195991
- Said, N. S., Olawuyi, I. F., & Lee, W. Y. (2023). Pectin Hydrogels: Gel-Forming Behaviors, Mechanisms, and Food Applications. *Gels*, 9(9), 732. doi: 10.3390/gels9090732
- Saltmarsh, M., & Insall, L. (2013). Food Additives and Why They Are Used. In *Essential Guide to Food Additives* (4th ed., pp. 1–3).
- Sharma, B. R., L., N., Dhuldhoya, N. C., Merchant, S. U., & Merchant, U. C. (2006). An overview on pectins. *Times Food Processing Journal*, June-July.
- Smith, B. (2018). Infrared Spectral Interpretation. In *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. CRC Press. doi: 10.1201/9780203750841
- Soquetta, M. B., Terra, L. de M., & Bastos, C. P. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. In *CYTA - Journal of Food* (Vol. 16, Issue 1). doi: 10.1080/19476337.2017.1411978
- Spyropoulos, F., Lazidis, A., & Norton, I. (2019). Handbook of Food Structure Development. In *Handbook of Food Structure Development*. doi: 10.1039/9781788016155
- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses : A Review Pornsak Sriamornsak Pornsak Sriamornsak. *Thaiscience.Info*, January 2003.
- Suri, S., Singh, A., & Nema, P. K. (2022). Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook. In *Applied Food Research* (Vol. 2,

Issue 1). doi: 10.1016/j.afres.2022.100050

- Voragen, A., Pilnik, W., Thibault, J., Axelos, M., & Renard, C. (1995). Pectins. In *Food Polysaccharides and Their Applications* (pp. 287–339).
- Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, 17(3). doi: 10.1016/j.tifs.2005.10.008
- Williams, P. A., & Phillips, G. O. (2021). Introduction to food hydrocolloids. In *Handbook of Hydrocolloids*. doi:10.1016/b978-0-12-820104-6.00017-6
- Wohner, B., Pauer, E., Heinrich, V., & Tacker, M. (2019). Packaging-Related Food Losses and Waste: An Overview of Drivers and Issues. *Sustainability*, 11(1), 264. doi: 10.3390/su11010264
- Yapo, B. M., Lerouge, P., Thibault, J. F., & Ralet, M. C. (2007). Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II. *Carbohydrate Polymers*, 69(3). doi: 10.1016/j.carbpol.2006.12.024
- Zainudin, B. H., Wong, T. W., & Hamdan, H. (2020). Pectin as oral colon-specific nano- and microparticulate drug carriers. In *Polymer Science and Innovative Applications* (pp. 257–286). Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-816808-0.00008-1
- Zhou, J., Liu, D., Xia, W., Guo, Y., Luo, Y., & Xue, J. (2023). Physicochemical and functional properties of RG-I enriched pectin extracted from thinned-young apples. *International Journal of Biological Macromolecules*, 236. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123953

ANEXOS

Anexo 1. Compra de materia prima

A



B



C



D



A. *Citrus medica* **B.** *Citrus reticulata* **C.** *Citrus latifolia* **D.** *Citrus limon* var. Lisbon

Anexo 2. Preparación de las variedades de limón

A



B



C

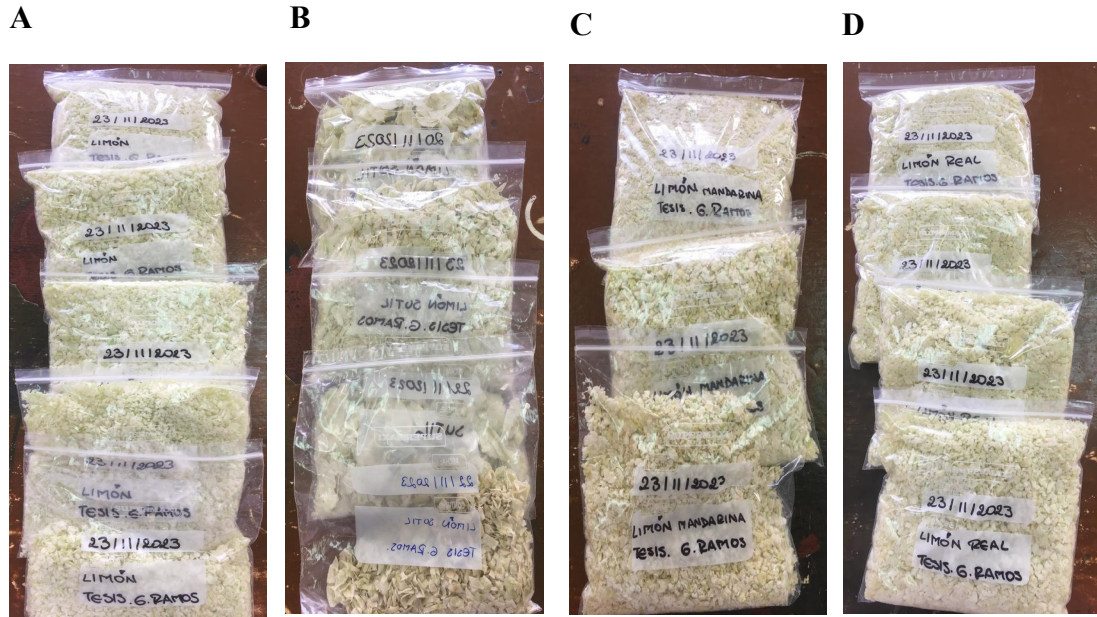


D



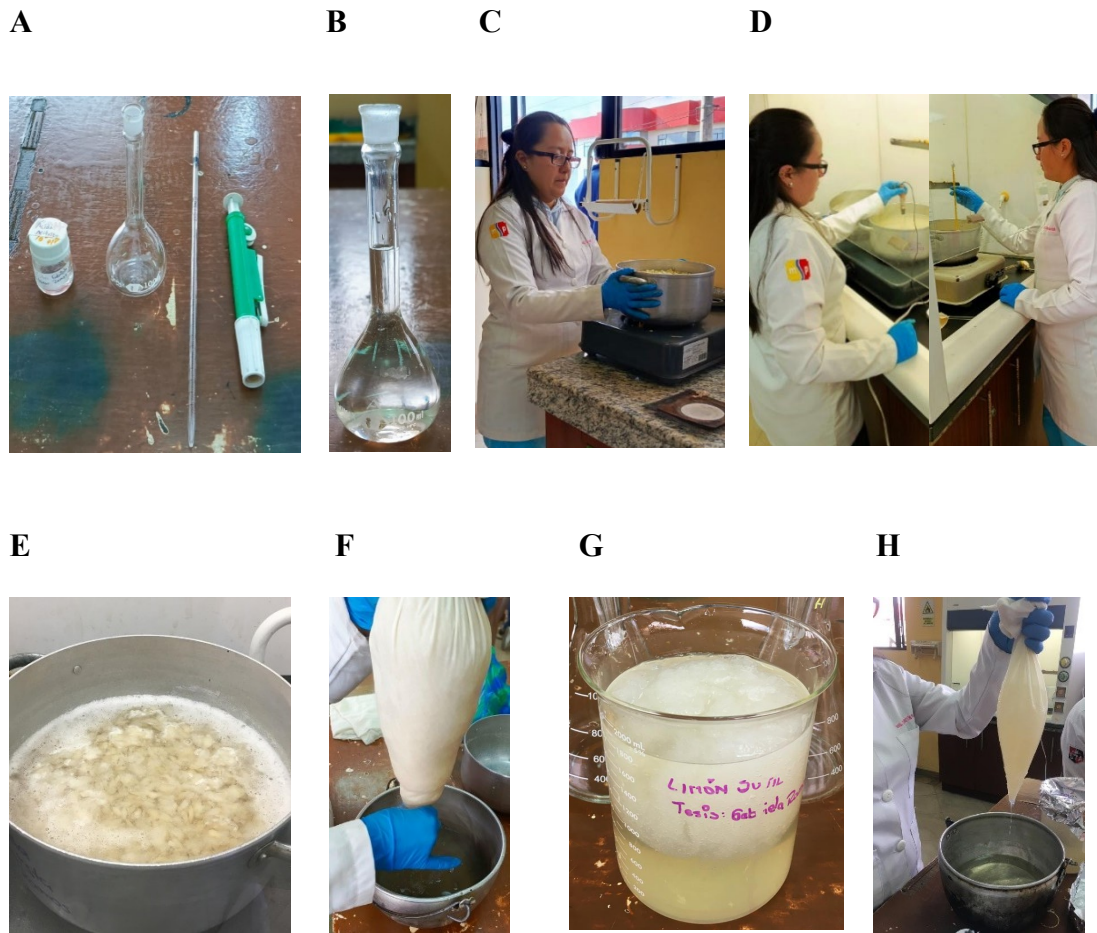
A. *Citrus medica* **B.** *Citrus reticulata* **C.** *Citrus latifolia* **D.** *Citrus limon* var. Lisbon

Anexo 3. Obtención de albedo de diferentes variedades de limón



A. *Citrus medica* **B.** *Citrus reticulata* **C.** *Citrus latifolia* **D.** *Citrus limon* var. Lisbon

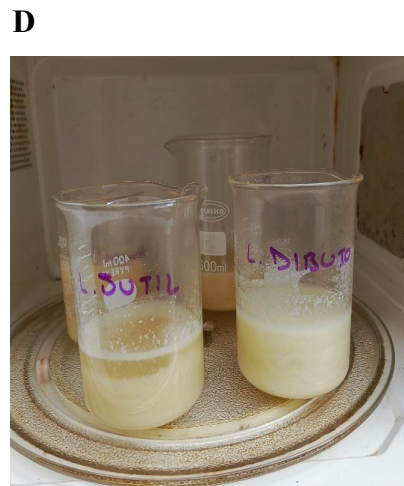
Anexo 4. Proceso de hidrólisis ácida (método tradicional)





A. Preparación de reactivo **B.** Dilución de HNO₃ **C.** Inactivación de enzimas pectinasas **D.** Medición de temperatura y pH **E.** Reposo de hidrólisis ácida **F.** Filtración **G.** Precipitación **H.** Filtrado para la obtención de pectina **I.** Masa de pectina obtenida **J.** Secado

Anexo 5. Extracción de pectina asistida por microondas



E



F



G



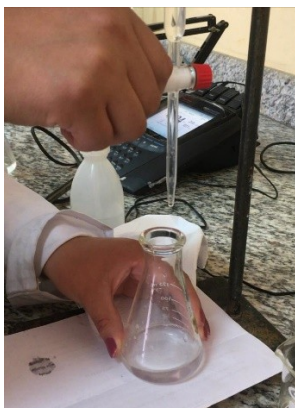
H



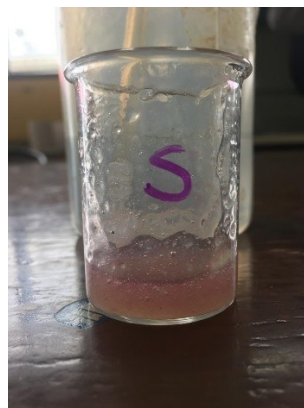
A. Albe do de variedades de limón **B.** Secado **C.** Muestra de polvo **D.** Extracción asistida por microondas **E.** Filtración **F.** Centrifugación **G.** Masa coagulada **H.** Secado

Anexo 6: Acidez libre para la pectina extraída de las 3 variedades de limón.

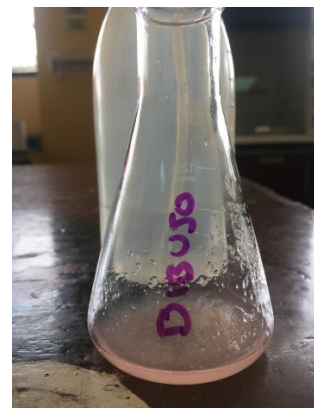
A



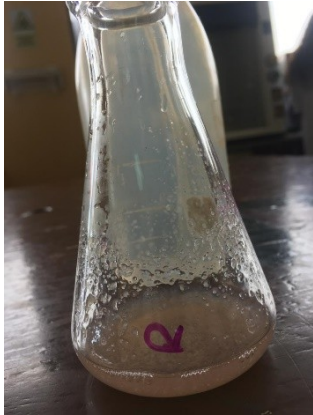
B



C



D



A. Titulación de acidez libre **B.** *Citrus latifolia* (sutil) **C.** *Citrus limon* var. Lisbon (limonelo) **D.** *Citrus medica* (real).

Anexo 7: Elaboración de la mermelada con la adición de la pectina extraída de las 3 variedades de limón.

A



B



C



D



E



F



G



H



I



J



A. Recepción de materia prima **B.** Lavado y selección de fruta **C.** Escaldado **D.** Despulpado **E.** Cocción **F.** Azúcar + pectina **G.** Benzoato de sodio **H.** Envasado de mermelada con pectina (*Citrus limon* var. Lisbon) **I.** Envasado de mermelada con pectina (*Citrus latifolia*) **J.** Envasado de mermelada con pectina (*Citrus medica*).

Anexo 8: Tabla ANOVA del rendimiento de las 4 variedades de limón en la extracción de pectina

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	251,28600		83,762003	7,1697246	0,06996960	9,2766281
	94	3	13	12	5	53
Columnas	12,587653		12,587653	1,0774575	0,37558334	10,127964
	13	1	13	95	1	49
Error	35,048209		11,682736			
	38	3	46			
Total	298,92187					
	19	7				