

EXTRACCIÓN DE PECTINA A PARTIR DE LA CÁSCARA DE CACAO Y SU CARACTERIZACIÓN MEDIANTE ANÁLISIS DE FT-IR

EXTRACTION OF PECTIN FROM COCOA SHELL AND ITS CHARACTERIZATION BY FT-IR ANALYSIS

Jordan A. Aparicio-Huablocho¹ , Enrique Neira² , Pedro Ramos M.³ 

¹Grupo de Biomateriales y Polímeros, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú

²Facultad de Ingeniería Química y Textil, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú

³Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú

Recibido (Received): 29 / 01 / 2024 Aceptado (Accepted): 01 / 08 / 2024

Publicación correspondiente al Volumen 34 n° 1

RESUMEN

El Perú se ubica entre los principales exportadores de cacao, consiguiendo un notable incremento en su producción, y junto a ello una alta generación de residuos. De los cuales, la cáscara es una potencial fuente de obtención de pectina. Bajo dicho escenario, la presente investigación propone como objetivo principal explorar la viabilidad de extraer pectina de bajo grado de esterificación a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) proveniente de los residuos de la industria cacaotera de la Peca-Amazonas (latitud 5°36'44"S, 78°26'16"O). Para alcanzar este propósito, se implementó un proceso de hidrólisis a 70 °C durante 120 minutos, utilizando una solución 0.1 N de ácido clorhídrico, fumárico y cítrico como agentes de extracción. Las muestras obtenidas fueron caracterizadas en términos de rendimiento (5,98 – 6,53%), peso equivalente (259 – 1077,2 g/mol), grado de metoxilo (3,33 – 5,53%) y contenido de ácido anhidrogálico (AGA) entre 35,075 y 72,30%. Asimismo, fueron caracterizadas mediante la técnica de FT-IR y por deconvolución del espectro se determinó el grado de esterificación (DE) en cada caso (6,11 – 43,14%). Con lo cual se concluye que la pectina obtenida a partir de ácido cítrico cumple con los estándares para pectinas comerciales, seguida del ácido fumárico mediante la metodología establecida.

Palabras Clave: Pectina, grado de esterificación, FT-IR, deconvolución, cacao

ABSTRACT

Peru ranks among the top exporters of cocoa, achieving a notable increase in production and a concomitant high generation of waste. Cocoa pod husk is a potential source of pectin. This study aims to explore the feasibility of extracting low-degree esterification pectin from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) derived from the cocoa industry residues in Peca-Amazonas (latitude 5°36'44"S, longitude 78°26'16"W). To achieve this, a hydrolysis process was implemented at 70 °C for 120 minutes, using 0.1 N solutions of hydrochloric, fumaric, and citric acids as extraction agents. The extracted pectin samples were characterized in terms of yield (5.98 – 6.53%), equivalent weight (259 – 1077.2 g/mol), methoxyl content (3.33 – 5.53%), and anhydrogalacturonic acid (AGA) content (35.075 – 72.30%). Furthermore, characterization was performed using FT-IR spectroscopy, and the degree of esterification (DE) was determined through spectrum deconvolution (6.11 – 43.14%). The results conclude that pectin extracted with citric acid meets the standards for commercial pectins, followed by fumaric acid using the established methodology.

Keywords: Pectin, degree of esterification, FT-IR, deconvolution, cocoa

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día el Perú se ha convertido en uno de los 10 principales productores y exportadores de cacao a nivel mundial. Hasta junio de 2023, se registraron alrededor de 46,7 mil toneladas exportadas generando ingresos por US\$ 162,8 millones [1]. La mayor parte de la producción de cacao se concentra en la región de San Martín, en la cual anualmente se produce alrededor de 60 mil toneladas de grano de cacao.

Es importante notar que solo el 10% del peso del fruto de cacao está compuesto por la semilla que se utiliza comercialmente. Como resultado, por cada tonelada de semilla seca, se generan aproximadamente 10 toneladas de cáscara de cacao (CPH). Este subproducto, a menudo desaprovechado, representa una fuente potencialmente valiosa para la extracción de pectina y otros compuestos bioactivos [2]. Esta cáscara, al no ser segregada adecuadamente, provoca contaminación ambiental, degradación del suelo y las áreas de cultivo; situación que se agrava por la existencia de numerosos vertederos a cielo abierto [3], incumpliendo con lo establecido en el marco legal

Corresponding autor:
E-mail: japaricioh@uni.edu.pe

peruano sobre gestión y regulación de los residuos sólidos [4] - [5]. Nuestro grupo ha contribuido ante dicha problemática, a través de recientes publicaciones, al mostrar la capacidad adsorbente de biocarbón elaborado a partir del CPH para la remoción de colorantes en un efluente textil artificial [6], y como materia prima para la extracción de pectina empleando ácido cítrico como agente extractante, caracterizándola como una pectina de bajo grado de esterificación (DE) [3]. La pectina, un heteropolisacárido presente en las paredes vegetales, no solo destaca por sus propiedades viscosificantes y emulsificantes [7], [8], sino que también por su versatilidad aplicativa en el campo farmacéutico, cosmético y alimenticio principalmente [9]. Más aún, su potencial uso como bioadsorbente de metales pesados en medio acuoso presenta nuevas posibilidades a futuras investigaciones [10]. La composición y propiedades de las pectinas varían de acuerdo a la fuente vegetal, proceso de extracción empleado y procedimientos subsecuentes [11]. Este polisacárido puede ser clasificado de acuerdo a su contenido de metoxilo, el cual se encuentra hasta en un 14% [12]. Aquellos que oscilan entre 7 y 14% son denominados de alto metoxilo (DE >50%), es decir, con más de la mitad de los grupos carboxílicos en forma de éster metílico (-COOCH₃), lo cual impide la formación de enlaces cruzados con iones divalentes, y por ende, formar geles. En cambio, pectinas con valores menor a 7% son llamadas de bajo metoxilo (DE <50%) [12], hecho que se refleja en una mayor capacidad para formar entrecruzamiento con iones divalentes como el Ca²⁺ [13]. Las pectinas de bajo grado de metoxilación son de alta demanda comercial debido a su mayor capacidad de gelificación, solubilidad y consistencia [14], por lo cual el presente trabajo busca obtener pectinas de bajo DE a partir de la cáscara de cacao mediante distintos agentes extractantes. Para su determinación se evaluó la influencia del agente extractante y se caracterizó mediante la técnica instrumental de FT-IR [3].

2. ANTECEDENTES

La extracción de pectina ha sido tradicionalmente realizada a partir de la cáscara de frutos cítricos como limones y naranjas, así como de manzanas. La creciente demanda industrial ha motivado la exploración de fuentes no convencionales de pectina, entre las cuales destaca la CPH. La elección de la fuente, el método de extracción y el agente extractante empleado guardan un impacto significativo en el rendimiento, grado de esterificación y demás parámetros característicos. En investigaciones previas, la CPH ha sido empleada como materia prima, utilizando ácido cítrico y ácido

sulfúrico durante 60 min a 85 °C y pH 2,0 y 3,0, obteniéndose un rendimiento superior con ácido cítrico (11,03%) comparado con el ácido sulfúrico (7,55%) a pH 2,0, pues a pH 3,0 ambos ácidos mostraron bajos rendimientos (6,88 % y 1,98% respectivamente) [15]. Otros estudios han explorado condiciones óptimas, revelando que el ácido cítrico a pH 2 alcanza un rendimiento del 18,12% con un contenido de metoxilo del 15,5%, mientras que la presencia del ácido galacturónico se ve favorecida cuando la extracción se lleva cabo con ácido acético durante 90 min a 90 °C logrando un porcentaje de 83,1% AGA.

La caracterización estructural de la pectina de cascarilla de cacao por resonancia magnética nuclear (RMN) ha permitido comparar el polímero obtenido con uno comercial, revelando un bajo grado de esterificación entre 35 y 37%. Asimismo, la actividad antioxidante de esta pectina supera los valores promedio reportados, destacando su potencial beneficioso, para el ácido galacturónico (10.31 ± 3.29%) y otras fuentes de pectina [3]. Otros autores han empleado la determinación del DE, a través de la relación entre las áreas correspondientes a las bandas del FT-IR de los espectros de pectinas empleando ácido ascórbico como agente extractante alcanzando una pectina de bajo metoxilo (8.1%) y un 4.2% de rendimiento indicando como el resultado óptimo de su investigación [16].

Aunque estos hallazgos son prometedores, se concluye que se requieren mayores estudios de optimización para determinar el rendimiento ante un posterior proceso de escalamiento.

A nivel industrial, el principal método de extracción se lleva a cabo mediante hidrólisis ácida entre 70 y 90 °C, empleando ácidos minerales como el ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y/o ácidos orgánicos como el ácido cítrico [17]. Este método está ampliamente usado debido a su bajo costo y alta eficiencia en los rendimientos de extracción. Sin embargo; estudios previos han evaluado la hidrólisis básica como medio de extracción, logrando rupturas en la cadena polimérica similar a lo obtenido con el tratamiento ácido. La desventaja de la hidrólisis básica radica en la inestabilidad que se da en la estructura principal del polímero lo cual conduce a su descomposición e ineficiencia durante la deshidratación alcohólica, mientras que al emplear ácidos como agentes extractantes se tiene la facilidad de realizar deshidratación alcohólica con altos rendimientos [18].

3. METODOLOGÍA

3.1 Materiales y reactivos químicos

Las muestras de CPH fueron obtenidas de las plantaciones cacaoteras del distrito de La Peca, provincia de Bagua, ubicada en Amazonas-Perú. Los agentes extractantes como el ácido cítrico, ácido fumárico y ácido clorhídrico, etanol 96% grado técnico, hidróxido de sodio fueron adquiridos de Merck Ltd (Alemania). En todo el proceso de experimentación se usó agua desionizada (15 μ S/cm).

3.2 Extracción de pectina

La metodología empleada se basa en trabajos previamente reportados [3], [19], con algunas adaptaciones. En nuestro caso, se pesaron 10 g de CPH y se colocaron en un vaso de precipitados de 500 mL con 200 mL de solución ácida 0.1 mol/L (relación 1:20 p/v). Posteriormente, la mezcla se mantuvo en agitación y calentamiento constante durante 120 min a 70 °C. Luego, la muestra fue enfriada hasta llegar a temperatura ambiente antes de ser filtrada al vacío. El líquido viscoso resultante se precipitó con etanol en una proporción de 1:1 (v/v) con agitación permanente para una mayor homogeneidad, seguido de un almacenamiento a 4 °C por 24 h. A continuación, la pectina húmeda se separó por decantación y el líquido restante se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min a 4 °C. Luego de ello, la pectina obtenida fue lavada con etanol al 70% para eliminar trazas de ácido y favorecer de esta manera su purificación. Finalmente, las muestras fueron secadas en una estufa a 45 °C hasta alcanzar un peso constante.

El rendimiento del proceso de extracción fue determinado según la Ec. 1 a partir de la cantidad de pectina seca obtenida con respecto al total de materia empleada al inicio de la extracción:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\% \quad (1)$$

Dónde:

A = Peso de pectina extraída (base seca)

B = Peso de cáscara de cacao (CPH)

3.3 Caracterización

3.3.1 Propiedades fisicoquímicas

La determinación del peso equivalente se realizó siguiendo la Ec. 2 y según lo descrito en el Food Chemical Codex con ligeras modificaciones [20]. Su valor indica el contenido total de ácido galacturónico libre en la pectina, para ello se disolvió 0.2 g de

pectina seca en 2 mL de etanol, luego se adicionó 20 mL de agua desionizada y 3 gotas de fenolftaleína hasta disolución total del polímero. Seguidamente, se tituló lentamente para evitar la desesterificación, utilizando NaOH 0.1 N hasta que la solución pasó a un color rojo magenta, el cual debe permanecer durante al menos 30 segundos con la finalidad de asegurar que el punto final de titulación ha sido alcanzado.

$$\text{Peso equivalente (g/mol)} = \frac{W_{\text{muestra(g)}}}{V_{\text{NaOH(mL)}} \times N_{\text{NaOH}}} \quad (2)$$

La solución neutralizada anteriormente fue nuevamente empleada en la determinación del contenido de metoxilo, el cual representa el grado de metilación en la muestra de pectina y es llevado a cabo mediante la saponificación del polímero. Para ello, se añadieron 10 mL de NaOH a 0.1 N para neutralizar el ácido poligalacturónico, y se agitó vigorosamente durante un período de 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió 10 mL de HCl a 0.1 N para llevar a cabo la desesterificación de la pectina. Se agregaron 3 gotas del fenolftaleína y se procedió a titular nuevamente con NaOH 0.1 N [19]. El volumen de álcali gastado fue aquel en el que se alcanzó el mismo punto de titulación del peso equivalente. El valor del contenido de metoxilo se calculó utilizando la Ec. 3:

$$\% \text{Cont. de metoxilo} = \frac{V_{\text{NaOH(mL)}} \times N_{\text{NaOH}} \times 31}{W_{\text{muestra(g)}}} \times 100 \quad (3)$$

Donde 1 mL de NaOH a 0.1 N equivale a 3.1 mg de grupo metoxi (-OCH₃).

El grado de esterificación indica el porcentaje de los grupos carboxílicos totales en el ácido anhidro galacturónico que son esterificados con metanol [2], y la fórmula que refleja su valor se representa por la Ec. 4:

$$\% \text{Grado de esterificación} = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100 \quad (4)$$

Dónde:

V₁ = Volumen de titulación en el Peq

V₂ = Volumen de titulación en el %Metoxilo

El contenido de Ácido Anhidro Galacturónico (AGA), esta determina por la Ec. 5:

$$\% \text{AGA} = \frac{176 \times 0.1 \text{N} \times (V_1(\text{mL}) + V_2(\text{mL}))}{W_{\text{muestra(mg)}}} \times 100 \quad (5)$$

3.3.2 Análisis espectroscópico FT-IR

A fin de analizar la presencia de grupos funcionales en las pectinas obtenidas (liofilizadas) se realizó el estudio de espectros infrarrojos por

transformada de Fourier (FT-IR), mediante un Espectrómetro Shimadzu IR Prestige-21 (Japón). Los espectros se adquirieron (64 escaneos/muestra) en el rango de 500 a 4000 cm^{-1} con 4 cm^{-1} de resolución [21], mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR). Para la determinación del grado de esterificación (DE) se emplearon las áreas pertenecientes a los picos del grupo COO-R sobre la suma de las áreas de los picos de los grupos COO⁻ y COO-R [16], [22].

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Extracción de pectina

La Fig. 1 muestra las pectinas obtenidas a partir de CPH mediante cada tipo de agente extractante empleado, estas imágenes se tomaron después de la liofilización.

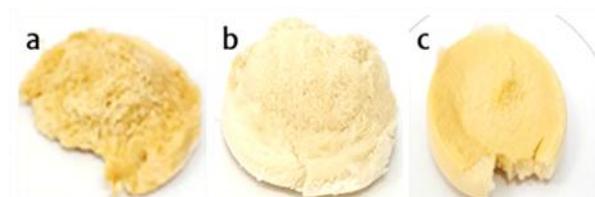


Fig. 1. Pectinas obtenidas con distintos agentes a) ácido cítrico; b) ácido fumárico; c) ácido clorhídrico

Esta técnica de secado no afecta la muestra, permitiendo una mayor conservación en comparación con el secado en estufa, que tiende a alterar la consistencia de la muestra. [19].

La pectina obtenida a partir de ácido cítrico (Fig. 1(a)) presenta una tonalidad amarillenta y quebradiza, similar en tonalidad a lo obtenido mediante ácido clorhídrico (Fig. 1(c)) pero de mayor consistencia al apreciarse compactada. Mientras que en la imagen central (Fig. 1(b)) referente a lo conseguido se logra compactar.

Las variaciones en la coloración final de las pectinas se explican por la interacción del ácido empleado con los polifenoles presentes en la cáscara de cacao, como las antocianinas (responsables de la coloración) y los carotenoides. Es relevante destacar que la tonalidad blanca-amarillenta observada coincide con pectinas de cacao, así como otras extracciones realizadas a partir de cítricos, manzanas, entre otros, mediante el uso de la hidrólisis ácida. [22]- [23].

Durante las experimentaciones, se pudo observar el cambio de tonalidad que presentaba la pectina al estar expuesta al ambiente. Por esta razón,

después del proceso de precipitación con etanol y su posterior filtración, es importante que la muestra esté lo menos expuesta para prevenir el pardeamiento provocado por la oxidación. Sin embargo, el parámetro que definirá su potencial aplicación industrial será el contenido de AGA con el cual se determina la pureza de la muestra.

4.2 Caracterización

Las propiedades fisicoquímicas de las pectinas obtenidas se listan en la Tabla 1. Cabe resaltar que estos valores fueron obtenidos empleando el método de titulación volumétrica por triplicado.

Características	C ₄ H ₄ O ₄	C ₆ H ₈ O ₇	HCl
Peso equivalente (g/mol)	259.8±1.12	248.75±1.03	1077.2±2.24
Grado de Metoxilo (%)	5.53±0.04	5.21±0.02	3.33±0.11
Grado de Esterificación (%)	6.11±0.03	43.14±0.25	36.74±0.17
AGA (%)	67.80±3.32	72.30±2.41	35.07±1.26
Rendimiento (%)	5.98±0.25	5.58±0.10	6.53±0.13

De los resultados obtenidos en la Tabla 1, es determinante destacar la relación inversa que guarda el peso equivalente con el contenido de AGA, en donde a valores altos del primero (1077.2 – 248.75 g/mol) se tiene una menor cantidad del segundo (35.07-72.30%), lo cual se traduce como una menor presencia de ácido galacturónico libre de forma desesterificada. Esto último se ve reflejado en los datos expuestos referente al DE, donde dicha tendencia inversa también es observada. Por el contrario, en el caso de la muestra obtenida mediante ácido fumárico (6.11±0.03%) se aprecia un valor mucho menor a lo supuesto, teniendo presente que al ser un ácido débil su influencia en la reducción del DE debería ser menor que el ácido cítrico (43.14±0.25%), el cual presenta mayor cantidad de grupos carboxilatos los cuales contribuyen en la acidez de la solución durante la etapa de extracción pero incluso este factor se vuelve de menor relevancia frente a la fuerza ácida del HCl (36.74±0.11%), la cual permite la disociación completa de la sustancia aportando mayor cantidad de protones que promueven mucho mejor la hidrólisis de los grupos metoxilo en la pectina, como se observa entre las muestras de ácido cítrico y clorhídrico; sin embargo, el caso particular del ácido fumárico puede estar asociado a su baja solubilidad (4.9 g/L a 20 °C) a diferencia del ácido cítrico (592.0 g/L a 20 °C), permitiendo un mejor proceso hidrolítico que las otras variantes ácidas sobre la matriz polimérica de CPH [24].

Los resultados obtenidos presentan similitud con lo reportado en los últimos años por diversos autores que emplearon CPH como materia prima, y ácidos orgánicos en un rango de extracción de 70-90 °C, durante un tiempo de 60-90 min obteniendo para el peso equivalente, contenido de metoxilo, DE y AGA un total de 4593-6430 g/mol, 2.4-2.5%, 17.8-16.2%, 54.5 - 25% para el ácido cítrico y fumárico respectivamente [24]. Mientras que con el uso de ácido clorhídrico a 80 °C durante 60 min, como parámetros óptimos, se obtuvo 663.83-1549.22 g/mol, 3.51-4.86%, 10.76-19.96% y 41.38-88.40% [25]. Estudios anteriores a base de residuos orgánicos como fuentes de pectina han reportado valores similares de peso equivalente a partir de cáscara de plátano (43 – 1456 g/mol) y cáscara de manzana (833 – 1666 g/mol) [26]- [27].

La evaluación del contenido de metoxilo se realizó según lo establecido por la United States Pharmacopeia (USP), quienes establecen a las pectinas con valores de metoxilo superiores a 6.7% como de alto metoxilo [18], por lo tanto las muestras obtenidas son clasificadas de bajo metoxilo al encontrarse en un rango de 3.33 – 5.53 %, lo cual es semejante a lo obtenido para la misma fuente vegetal (3.4%) con la diferencia en la temperatura y tiempo de extracción (70°C y 95 min) a base de ácido cítrico [28], un estudio semejante consiguió pectinas de bajo metoxilo al emplear ácido cítrico y sulfúrico en la hidrólisis al variar el pH (3.95% y 5.06% respectivamente) [15]. Mientras que en estudios a base de cáscara de soya se reportó valores de 3.05% para el contenido de metoxilo empleando HCl 0.1N a 90°C [17]. En el presente estudio, la menor cantidad de metoxilo (3.33%) se observó para el HCl, mientras que el de mayor contenido se registró con el ácido fumárico (5.53%). Según la literatura reportada, se puede afirmar que el pH influye en las condiciones de extracción, ya que la hidrólisis ácida a altas temperaturas provoca la desmetilación y rupturas en la cadena del ácido poligalacturónico [28].

Este último permite determinar la pureza y la calidad de la pectina obtenida, ya que esta parcialmente esterificado, el cual contiene un 10% de material orgánico a base de arabinosa, galactosa y azúcares [13], siendo el valor de 65% el mínimo aceptado por la FAO (Food and Agriculture Organization) para pectinas comerciales [18]. En base a ello podemos afirmar que los biopolímeros obtenidos mediante ácido fumárico y cítrico cumplen con las características establecidas, siendo esta última la de mayor pureza (72.3%). Estos valores están acorde a lo reportado en los estudios anteriormente mencionados, donde se exponen valores de AGA entre 65.58 y 71.88% [28]; y en el caso particular del ácido cítrico como extractante en estudios de cáscara

de cacao, los valores de pureza se encuentran en un rango de 67-69% [15]. Por otro lado, para los análisis de pectinas a partir de cáscaras de plátano se han reportado valores entre 34.56-66.67% [29], lo cual se encuentra en similitud con los resultados obtenidos en este estudio. Sin embargo, la extracción con HCl pudo haber sufrido degradación durante el proceso de hidrólisis en los enlaces glucosídicos α -1,4, ocasionando un bajo contenido de AGA (35.07%). Con posible influencia en el rendimiento, ya que el valor máximo se logró con el ácido clorhídrico (6.53±0.13%). Esto último pudo deberse a que no solo se generó la formación de pectina, ya que una mayor despolimerización podría haber dado lugar a otros polisacáridos neutros u gomas [8]. Por el contrario, se alcanzó un rendimiento del 5.58% con el ácido cítrico, mientras que con el ácido fumárico se obtuvieron valores superiores (5.98%). Estos valores son superiores a lo reportado en estudios anteriores donde se logró obtener entre el 1.62% y el 2.21% [30]. En estudios recientes aplicados a *Theobroma cacao Linnaeus*, se indican rendimientos de 2.31% [2]. Además, se tiene registro del uso de ácido ascórbico como agente extractante, con el cual se alcanzó un rendimiento de 4.2 ± 0.12% [16]. Otros estudios exponen valores de 8.82 g pectina/100 g de CPH [28], mientras que el uso de ácido cítrico a pH 3 por 95 °C y 95 min se ha reportado rendimientos de 10.1 ± 0.3% a partir de la pulpa de manzana [31]. Por otro lado, la aplicación de ácido fumárico a pH 2.5 durante 86 min a 87 °C logró un rendimiento del 4.0 ± 1.2% [24], y con el uso de HCl como agente extractante, variando la relación de sólido/líquido (1:15, 1:20 y 1:25) y tiempo de extracción (20, 30 y 40 min) se evaluó su influencia en el rendimiento, concluyendo que conforme aumenta la relación de carga se tiene mayores porcentajes de rendimiento, donde la relación 1:25/40 es la que mayor rendimiento presentó (8.38 ± 2.0) [32]. Investigaciones en las que se realizaron variaciones de los agentes extractantes han llegado a reportar rendimientos superiores que oscilan entre el 10.95% y el 19.85% en comparación con lo establecido en este estudio en cuanto a niveles de pH, temperaturas y tiempos de extracción [33]. Estos aspectos muestran que los parámetros característicos de las pectinas dependen de la fuente vegetal, ya que esta provee los ácidos libres, el ácido empleado y el pH al cual se realizó la extracción.

4.3 Análisis mediante FT-IR

En la Fig. 2 se muestra el espectro infrarrojo obtenido a partir de las pectinas de CPH, las cuales presentan similitud química.

En el espectro se aprecian las vibraciones asociadas a los grupos funcionales que caracterizan a

las pectinas en sus respectivas bandas de estiramiento. Entre los 3300 y 3500 cm^{-1} se manifiesta el estiramiento del grupo hidroxilo (-OH) del ácido galacturónico, con lo cual se evidencia que la pectina es un polisacárido, representado en los 3328 cm^{-1} tal como se indica en la Fig. 2. Alrededor de los 2800 - 3000 cm^{-1} se tiene la banda del enlace C-H propio de las vibraciones de -CH, -CH₂ y -CH₃ de los ésteres metílicos. Entre los 2500 cm^{-1} y 2000 cm^{-1} se observan picos no característicos, lo cual se puede traducir como posibles impurezas [34]. Las bandas observadas entre los 1730 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} corresponden al enlace C=O de los grupos carboxílicos esterificados (-COOCH₃) y a los grupos carboxilo libres (-COOH) respectivamente, hecho que caracteriza a las muestras obtenidas como pectinas de bajo grado de esterificación; siendo aún más evidente en la muestra obtenida a partir de ácido fumárico, al exponer el pico de la forma esterificada de forma casi imperceptible. Mientras que los valores que se aprecian en el rango de los 1300 a 900 cm^{-1} pertenecen a enlaces éter (R-O-R) y cadenas cíclicas (C-C) que se encuentran unidos a la estructura de pectina en las subunidades RG-I y RG-II [3], [20].

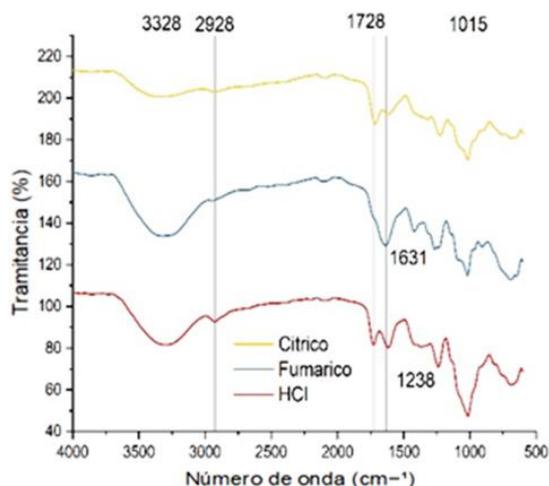


Fig. 2. Espectro FT-IR de las pectinas de CPH

La determinación del grado de esterificación se realizó a partir de la gráfica del FT-IR en condiciones de absorbancia (Fig. 3) y por deconvolución de los componentes que se encuentran en el espectro.

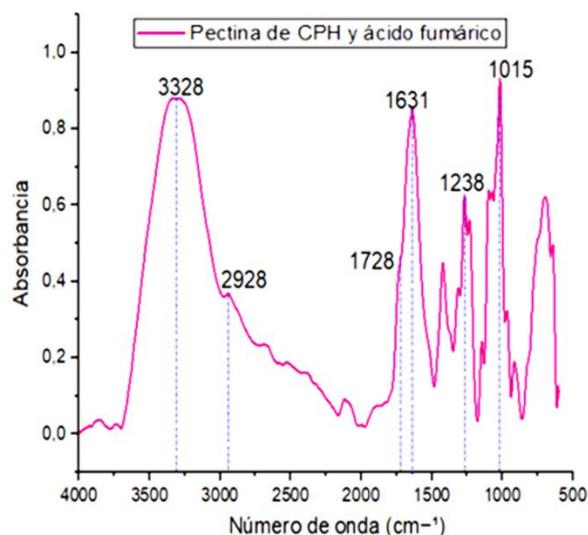


Fig. 3. Espectroscopia FT-IR de pectina CPH con Ácido fumárico

Tanto en la Fig. 2 y Fig. 3, se puede visualizar la presencia tenue, casi ausente de la banda de los grupos acetilados entre 1700 y 1800 cm^{-1} en la pectina extraída con ácido fumárico, hecho que la enmarca como una pectina de bajo DE, puesto que el área del grupo carboxilo es mucho mayor a su forma esterificada dando un valor de 6.11%, lo cual es validado mediante el método volumétrico expuesto en la Tabla 1.

Lo mencionado anteriormente se muestra de forma clara mediante la Fig. 4, en la cual se distingue claramente la gran diferencia entre las áreas de las bandas de los grupos analizados en la determinación del DE, en contraste con los demás ácidos empleados en el presente estudio. Esto refleja la influencia que tiene el agente extractante en el proceso de extracción.

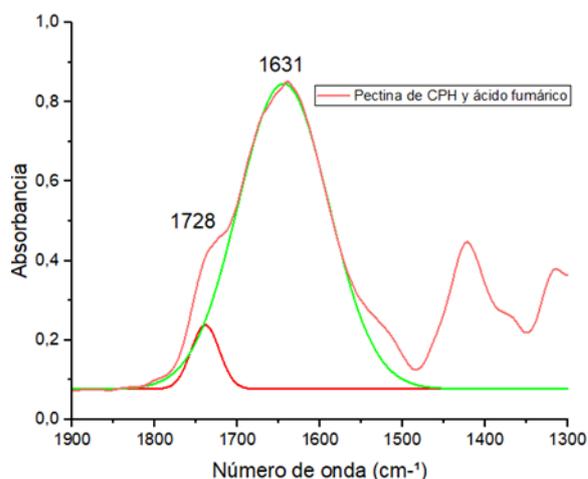


Fig. 4. Deconvolución de pectina de CPH con Ácido fumárico

La Fig. 4, al igual que la Fig. 5 y Fig. 6 muestran el resultado de la deconvolución del

espectro FT-IR, por medio del programa OriginPro® 2024 utilizando la función Gaussiana, en la cual se logró descomponer las bandas superpuestas en picos más pequeños y nítidos, a fin de eliminar las distintas dispersiones del sistema.

En estos espectros se dio libertad de corrimiento en el máximo de los picos, con la finalidad de permitir un ligero desplazamiento al momento de obtener un modelado más preciso de la data experimental. Es relevante dejar dicha libertad, ya que las pectinas varían estructuralmente en base a la fuente natural y los distintos métodos de extracción, como son los mostrados en este estudio y lo informado en la literatura [35]. Dichas variaciones son más apreciables en la Fig. 4, en la cual los desplazamientos en las frecuencias de absorción de los grupos funcionales, pueden estar interactuando de formas complejas, teniendo en cuenta la estructura dicarboxílica del ácido empleado y su baja solubilidad.

No se optó por mantener fijos los picos ya que la influencia de posibles impurezas, pueden dar variaciones inherentes en las muestras e incluso la humedad de esta misma. Por otro lado, la poca información respecto al uso de ácido fumárico como extractante requiere realizar el modelamiento de la data con libertad de corrimiento a fin de evaluar su influencia en la estructura de la pectina obtenida, compararlas entre las distintas muestras y futuras investigaciones.

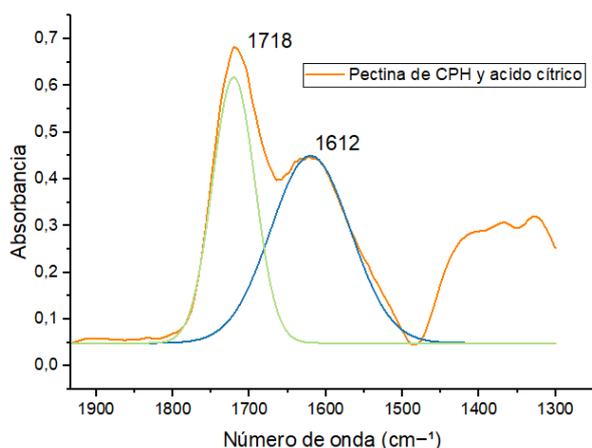


Fig. 5. Deconvolución de pectina de CPH con Ácido cítrico

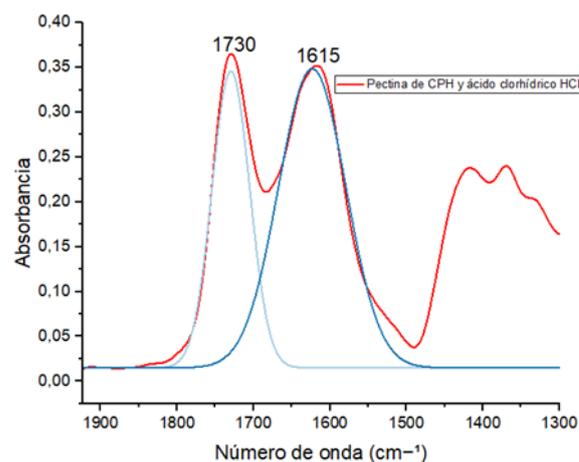


Fig. 6. Deconvolución de pectina de CPH con Ácido clorhídrico

Desde las gráficas 5 y 6, se determina el área correspondiente para cada banda de los grupos carboxilos esterificados y los grupos carboxilo libres; donde el porcentaje del DE para la pectina obtenida a partir del ácido cítrico como extractante fue de 43.14 %, mientras que su semejante extraído con ácido clorhídrico presentó un valor de 36.74 %. Esta forma de caracterizar el DE es acorde con investigaciones previas en las que se emplea la relación entre las áreas mencionadas, alcanzando valores de 8.1% a partir del ácido ascórbico como extractante [16], lo cual es muy cercano a lo obtenido en el presente trabajo a partir del ácido fumárico (6.11%). Así mismo, en estudios reportados mediante ácido cítrico bajo condiciones similares de extracción se alcanzó el valor de 35-37% [3] para el grado de esterificación, datos cercanos a la muestra de la presente investigación (43.14%).

En base a los resultados obtenidos, podemos afirmar que las muestras extraídas mediante la metodología expuesta son pectinas de bajo grado de esterificación, ya que poseen menos de la mitad de los grupos carboxilos esterificados.

Sin embargo, es necesario hacer una aclaración con respecto al contenido de metoxilo y el grado de esterificación. Este último solo indica la relación existente entre los grupos carboxilo que están esterificados con metanol en comparación con los grupos carboxilo libres. Por otro lado, el contenido de metoxilo nos indica la cantidad de grupos metoxilo en toda la muestra de pectina analizada. Es relevante tener en cuenta estas definiciones ya que, al ser un polímero ramificado, no solo se tendrán grupos metoxilo enlazados a los carboxilos. Esto es aún más importante cuando se trata de pectinas con bajo AGA, ya que el DE no representa la totalidad de las esterificaciones con metilo [17].

CONCLUSIONES

El método de extracción empleado permite obtener pectinas con un bajo grado de esterificación al utilizar bajas temperaturas (70 °C) y tiempos de extracción prolongados (120 min). Este proceso es eficiente y se recomienda la caracterización de las pectinas obtenidas mediante técnicas instrumentales, que son precisas respecto al tiempo.

Los polisacáridos obtenidos presentaron una estructura compacta con posibles aplicaciones como medio filtrante, de entre las cuales la muestra a partir de HCl presentó un mayor rendimiento (6.53±0.13%). El ácido cítrico, utilizado como agente extractante, cumplió con los parámetros establecidos para pectinas comerciales, con un 72.3% de AGA, 43.14% de grado de esterificación (DE), 5.21% de contenido de metoxilo. Seguido por el ácido fumárico, el cual presentó efectos notales en su rendimiento (5.98±0.03%) y DE (6.11±0.03%) asignados a su baja solubilidad.

En base a lo mencionado, se recomienda emplear ácidos débiles como agentes extractantes, por ser no invasivos y generar una menor degradación de la pectina obtenida, otorgando una mayor calidad en contraste con los ácidos fuertes que provocan una mayor degradación y rupturas en las ramificaciones de su estructura.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería a través del concurso de Proyectos Formativa 2022 con código de proyecto FIA-PF-06-2022. Los autores agradecen al MSc. Bryan M. Córdova y MSc. Ronny G. Huamani-Palomino por su apoyo durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] O. G. Huamán Sánchez, "Observatorio de Commodities – Cacao", 2023. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.midagri.gob.pe/jspui/handle/20.500.13036/1583?locale=es>
- [2] N. Molina y L. Tintaya, "Extracción y caracterización de pectina de la cascarilla del Theobroma Cacao Linnaeus (Cacao) para la inmovilización de Saccharomyces Cerevisiae y su aplicación en la fermentación del mosto de manzana", Tesis de Bachiller, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú, 2018. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/7687>
- [3] R. Huamani-Palomino, et al., "Structural elucidation of pectin extracted from cocoa pod husk (Theobroma Cacao L.): Evaluation of the degree of esterification using FT-IR and 1H NMR", *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2023, doi: 10.1007/s13399-023-04082-3

- [4] Ministerio del Ambiente, "Decreto Supremo que aprueba los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) de aire de los parámetros cadmio y cromo en material particulado menor a diez micras (PM10)", 2021. [En línea]. Disponible: <https://www.gob.pe/institucion/minam/normas-legales/4880911-0011-2023-minam>
- [5] Ministerio del Ambiente, "Decreto Legislativo N° 1278", 2017. [En línea]. Disponible: <https://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-legislativo-n-1278/>
- [6] B. Córdova, J. Santa Cruz, M. Ocampo TV, R. Huamani-Palomino y A. Baena-Moncada, "Simultaneous adsorption of a ternary mixture of brilliant green, rhodamine B and methyl orange as artificial wastewater onto biochar from cocoa pod husk waste. Quantification of dyes using the derivative spectrophotometry method", *New J Chem*, no. 44, pp. 8303-8316, 2020, doi: 10.1039/DoNJo0916D
- [7] S. Ozilgen y S. Bucak, "Functional Biopolymers in Food Manufacturing", *Academic Press*, 2018, pp. 157-189, doi: 10.1016/B978-0-12-811449-0.00006-2
- [8] Y. Maldonado, S. Salazar, C. Millones, E. Torres y E. Vásquez, "Extraction of pectin by acid hydrolysis method in fruit maushan (Vasconcellea weberbaueri (Harms) V.M. Badillo) from the district of San Miguel de Soloco, Amazon region", *Rev. Aporte Santiaguino*, vol. III, n° 2, pp. 177-184, 2010, doi: 10.32911/as.2010.v3.n2.437
- [9] A. Roman-Benn, C. A. Contador, M.-W. Li, H.-M. Lam, K. Ah-Ken, P. E. Ulloa y M. C. Ravanal, "Pectin: An overview of sources, extraction and applications in food products, biomedical, pharmaceutical and environmental issues," *Food Chemistry Advances*, vol. II, pp. 1-13, 2023, doi: 10.1016/j.focha.2023.100192
- [10] R. Wanga, R. Liang, T. Dai, J. Chen, X. Shuai y C. Liu, "Pectin-based adsorbents for heavy metal ions: A review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 91, pp. 319-329, 2019, doi: 10.1016/j.tifs.2019.07.033
- [11] J. N. BeMiller, "15-Pectins," *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, vol. III, pp. 303-312, 2019, doi: 10.1016/B978-0-12-812069-9.00015-7
- [12] K. J. Urango-Anaya, O.-Q. Ortega-Quintana, V.-H. Vélez-Hernández y Ó. A. Pérez-Sierra, "Extracción Rápida de Pectina a Partir de Cáscara de Maracuyá (Passiflora edulis flavicarpa) empleando Microondas," *Información Tecnológica*, vol. 29, n° 1, pp. 129-136, 2018, doi: 10.4067/S0718-07642018000100129
- [13] D. L. Suárez y D. M. Orozco, "Obtención y caracterización de pectina a partir de la cascarilla de cacao del theobroma cacao L., subproducto de una industria chocolatera nacional," 2014. [En línea]. Disponible: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:133034973>.
- [14] R. Graham y A. Sheperd, "Pectin Production, Pilot Plant Production of Low-Methoxyl Pectin from Citrus Peel," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 898-904, 1953, doi: 10.1021/jf60016a004
- [15] W. Sosa-Romero, C. Martínez y I. Ledezma, "Preparation and characterization of pectin extracted from cocoa hulls (Theobroma cacao L.) by acid hydrolysis," *Vitae*, vol. 23, pp. S647-S650, 2016. [En línea]. Disponible: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/obtencion-y-caracterizacion-de-pectina-extraida/docview/1783660404/se-2>
- [16] R. Chidambaram, F. Priyangini y S. G. Walde, "Extraction optimization of pectin from cocoa pod husks (Theobroma cacao L.) with ascorbic acid using response surface methodology,"

Carbohydrate Polymers, vol. 202, pp. 497-503, 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.08.103

[17] F. Aline de Moura, et al., "Characterization and physicochemical properties of pectins extracted from agroindustrial by-products," *J Food Sci Technol*, vol. 54, n° 10, pp. 3111-3117, 2014, doi: 10.1007/s13197-017-2747-9

[18] V. Y. Zegada Franco, "Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas (HMO)", *Investigación & Desarrollo*, vol. 1, n° 15, pp. 65-76, 2015. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2518-44312015000100007&lng=es&tlng=es

[19] L. Shan Qin, C. Nyuk Ling y Y. Yus Aniza, "Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels," *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, vol. 2, pp. 231-236, 2014, doi: 10.1016/j.aaspro.2014.11.033.

[20] D. Mamiru y G. Gonfa, "Extraction and characterization of pectin from watermelon rind using acetic acid," *Heliyon*, vol. 9, p. 12, 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13525

[21] N. Muñoz-Almagro, F. Rico-Rodríguez, M. Villamiel y A. Montilla, "Pectin characterisation using size exclusion chromatography: A comparison of ELS and RI detection," *Food Chemistry*, vol. 252, pp. 271-276, 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.087

[22] Y. Arroyo, M. Carrasco, A. Bueno, R. Cardeña y C. Luízar, "Obtención y caracterización fisicoquímica y funcional de las fibras dietéticas del níspero común (*Mespilus germanica*)," *Rev Soc Quím Perú*, vol. 74, n° 4, pp. 269-281, 2008. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000400007&lng=es&tlng=es

[23] L. Hennessey-Ramos, W. Murillo-Arango, J. Vasco-Correa y I. Paz Astudillo, "Enzymatic Extraction and Characterization of Pectin from Cocoa Pod Husks (*Theobroma cacao* L.) Using Celluclast 1.5 L," *Molecules*, vol. 26, n° 1473, 2021, doi: 10.3390/molecules26051473

[24] J. Jarrín-Chacón, J. Núñez-Pérez, R. Espín-Valladares, L. Manosalvas-Quiroz, H. Rodríguez-Cabrera y Pais-Chanfau, "Pectin Extraction from Residues of the Cocoa Fruit (*Theobroma cacao* L.) by Different Organic Acids: A Comparative Study," *Foods*, vol. 12, n° 3, pp. 1-14, 2023, doi: 10.3390/foods12030590

[25] N. Musita, "Characteristics of Pectin Extracted from Cocoa Pod Husks," *Pelita Perkebunan*, vol. 37, n° 1, pp. 62-75, 2021, doi: 10.22302/icri.jur.pelitaperkebunan.v37i1.428

[26] M. Sarah, I. Hasibuan, E. Misran y S. Maulina, "Optimization of Microwave-Assisted Pectin of Microwave-Assisted Pectin," *Molecules*, vol. 27, n° 6544, 2022, doi: 10.3390/molecules27196544

[27] A. Kumar y C. G.S., "Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor," *Carbohydr. Polym.*, vol. 82, n° 2, pp. 454-459, 2010, doi: 10.1016/j.carbpol.2010.05.001

[28] G. Guerrero, D. Suarez y D. Orozco, "Implementation of a method of extraction conditions of pectin obtained from agroindustrial by-product cocoa husks," *Temas Agrarios*, vol. 22, n° 1, pp. 85-90, 2017, doi: 10.21897/rta.v22i1.919

[29] L. Kamlai, K. Phaviphu, G. Paiboolya, S. Klanarong y S. Kunruedee, "Characterization of pectin extracted from banana peels of different varieties," *Food Sci Biotechnol*, vol. 27, n° 3, pp. 623-629, 2018, doi: 10.1007/s10068-017-0302-0

[30] K. M. Calderon Upiachihua y J. G. Guerrero Marina, "Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN - 51 procedente del distrito de Pajarillo - provincia de Mariscal Cáceres", Tesis de Bachiller, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú, 2018. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3132>

[31] C. L. de Oliveira Petkowicz, R. F. Teófilo y L. C. Vriesmann, "Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid," *LWT- Food Science and Technology*, vol. 49, pp. 108-116, 2012, doi: 10.1016/j.lwt.2012.04.018

[32] B. E. Morales-Contreras, et al., "Apple pomace from variety "Blanca de Asturias" as sustainable source of pectin: Composition, rheological, and thermal properties," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 117, 2020, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108641

[33] A. Cobeñas y J. Guerrero, "Caracterización de la pectina obtenida a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) mediante variación del ácido y temperatura", Tesis de Bachiller, Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, Perú, 2018. [En línea]. Disponible: <http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/355>

[34] G. Barreto, A. L. PúaRosado, D. De Alba y M. Pión, "Extracción y caracterización de pectina de mango de azúcar (*Mangifera indica* L.)," *Temas Agrarios*, vol. 22, n° 1, pp. 77-84, 2017, doi: 10.21897/rta.v22i1.918

[35] R. Salzer, "Peter R. Griffiths, James A. de Haseth: *Fourier transform infrared spectrometry* (2nd edn.)," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 391, no. 7, pp. 2379-2380, Aug. 2008, doi: 10.1007/s00216-008-2144-3.



Los artículos publicados por la TECNIA se distribuyen bajo la licencia de uso Creative Commons (CC BY 4.0). Permisos leídos de este alcance pueden ser consultados a través del correo tecnia@uni.edu.pe