



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

---

**CUERPO ACADEMICO DE BIOTECNOLOGIA AGROALIMENTARIA**

**Estudio químico y reológico de polisacáridos tipo pectina  
de la cáscara de tuna (*Opuntia spp.*)**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL  
P R E S E N T A:  
ANA LAURA LIRA ORTIZ**

**Dirección: Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández**

**Codirección: Dr. Norberto Chavarria Hernández**

**Tulancingo de Bravo, Hidalgo, Febrero 2009**

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Físico-Química y Laboratorio de Análisis Especiales del Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, bajo la dirección de los profesores: Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández y Dr. Norberto Chavarria Hernández, así como en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo Coahuila, México, bajo la asesoría del profesor Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel. El trabajo forma parte de las actividades de los proyectos: “ESTUDIO REOLÓGICO DE HIDROCOLOIDES DE LA CÁSCARA DE TUNA (*Opuntia* spp.)”, Programa Anual de Investigación 2006 (PAI-2006 y PROMEP-CA 2007-2008) y “CONSOLIDACIÓN DEL CUERPO ACADÉMICO DE BIOTECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA”, PIFI 3.3 (2007).

## Agradecimientos

Mi agradecimiento a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, institución en la que llevé a cabo mi formación profesional, así como al Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos UAEH-ICAp, en el que fue posible realizara el presente trabajo de investigación.

Expreso mi sincero agradecimiento y admiración a la Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández, por brindarme la grandiosa oportunidad para realizar este trabajo de investigación sin conocerme, por su inestimable ayuda, confianza, paciencia, amistad y comprensión, además de su apoyo en todo momento y con quien aprendí muchas cosas.

Al Dr. Norberto Chavarría Hernández, por el apoyo, paciencia y oportunidad de trabajar con ustedes, fue una experiencia muy grata haber pertenecido al Cuerpo Académico de Biotecnología Agroalimentaria.

Al Inge Espino, a quien tengo especial aprecio, gracias por compartir sus conocimientos y consejos.

Al Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel de la Universidad Autónoma de Coahuila, por el apoyo y amistad brindados durante la estancia realizada en la Facultad de Ciencias Químicas.

A la Q.F.B Elvira Leal Ríos del CINVESTAV, Zacatenco D.F., por el apoyo en la realización de la determinación de azúcares neutros y masa molecular del polisacárido, así como a la comisión revisora por las observaciones del presente trabajo.

A mis amigas de la carrera por su amistad, por todo lo que me permitieron pasar con ustedes, así como a los chicos compañeros del cuerpo académico de biotecnología por su ayuda incondicional y desinteresada, especialmente aquellos que me brindaron cariño, comprensión y apoyo, dándome con ello momentos realmente gratos, así como a los chicos de Saltillo que me apoyaron durante la estancia.

## Dedicatoria

A mi mami: por velar por nosotras y conducirnos hasta donde estamos  
eres a quien admiro y amo por sobre todas las cosas.

Mis hermanas, mis sobrinos y mi cuñado  
Por compartir parte de su vida y su tiempo conmigo

Abi... aun tengo presente tu imagen, te quiero mucho donde quiera que estes...

Mi complice...

Sabes lo que significas para mi y que no me alcanzaria el espacio para agradecerte y  
decirte lo que siento

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADROS .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
NOMENCLATURA .....	x
SUBÍNDICES Y PREFIJOS.....	xiii
SÍMBOLOS GRIEGOS.....	xiii
RESUMEN .....	xiv
<b>Capítulo 1</b> INTRODUCCIÓN .....	1
<b>Capítulo 2</b> REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Clasificación taxonómica de la tuna .....	3
2.2 Características generales de la variedad <i>Opuntia ficus-indica</i> spp. ....	4
2.3 Composición química de la tuna .....	4
2.4 Producción de tuna .....	5
2.4.1 Producción Mundial.....	5
2.4.2 Producción Nacional .....	6
2.5 Productos procesados a partir de la tuna.....	8
2.6 Generalidades de pectinas.....	9
2.6.1 La pared celular vegetal .....	9
a) Celulosa.....	11
b) Hemicelulosa .....	12
c) Lignina .....	12
d) Pectina.....	12
2.6.2 Composición química de las pectinas .....	13
2.6.3 Elementos estructurales de la pectina.....	14
a) Homogalacturonano (HG).....	14
b) Ramnogalacturonano I (RGI).....	15
c) Ramnogalacturonano II (RGII).....	16
2.7 Clasificación química de las pectinas.....	16

2.8 Mecanismos de gelificación de las pectinas.....	18
2.9 Usos de las pectinas en la agroindustria.....	20
2.10 Antecedentes al presente trabajo.....	22
<b>Capítulo 3 HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Hipótesis .....	29
3.2 Objetivos .....	29
3.2.1 Objetivo general .....	29
3.2.2 Objetivos específicos .....	29
3.3 Justificación.....	30
<b>Capítulo 4 MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>31</b>
4.1 Espécimen .....	31
4.2 Extracción de polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna en tanque agitado .....	32
4.3 Purificación del polisacárido extraído.....	33
4.4 Determinación del rendimiento del polisacárido extraído.....	33
4.5 Caracterización fisicoquímica y reológica del polisacárido extraído de la cáscara de tuna.....	34
4.5.1 Caracterización fisicoquímica.....	34
a) Determinación de humedad.....	35
b) Determinación de cenizas .....	35
c) Determinación de proteína.....	36
d) Determinación del contenido de minerales.....	36
e) Determinación de masa molar promedio.....	37
f) Determinación de azúcares neutros .....	38
g) Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier .....	39
h) Análisis termogravimétrico (TGA) del polisacárido péctico de cáscara de tuna .....	40
4.5.2 Caracterización reológica.....	40
<b>Capítulo 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>42</b>
5.1 Rendimiento de extracción y análisis proximal.....	42

5.2 Determinación de masas moleculares del polisacárido péctico de cáscara de tuna.....	43
5.3 Determinación de azúcares neutros y ácido galacturónico .....	46
5.4 Contenido de minerales .....	48
5.5 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier .....	48
a) Comparación de estructura y grupos funcionales del polisacárido péctico de cáscara de tuna y ácido poligalacturónico .....	48
b) Estimación del grado de metoxilación del polisacárido péctico de cascara de tuna.....	52
5.6 Análisis Termogravimétrico del polisacárido péctico de cáscara de tuna .....	54
5.7 Caracterización reológica de soluciones de polisacárido péctico de cáscara de tuna.....	56
<b>Capítulo 6 CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>Capítulo 7 RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS .....</b>	<b>63</b>
7.1 Recomendaciones.....	63
<b>Capítulo 8 REFERENCIAS.....</b>	<b>64</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 2.3-1</b>	Composición química de frutos de distintas especies del género <i>Opuntia</i> (Lakshminarayana <i>et al.</i> , 1980).	5
<b>Cuadro 2.4.1-1</b>	Principales países que participan en la producción mundial de tuna (Gatica, 2006).	5
<b>Cuadro 2.4.2-1</b>	Agrupación de los estados donde se produce tuna en México (SAGARPA 2001).	7
<b>Cuadro 2.4.2-2</b>	Características físicas y morfológicas de cosecha de distintas variedades de tuna producidas en México (SAGARPA 2001).	8
<b>Cuadro 2.10-1</b>	Resumen de estudios realizados de extracción de mucílagos y/o polisacáridos pécticos en nopal y tuna.	25
<b>Cuadro 4.5-1</b>	Condiciones cromatográficas para la determinación de masas moleculares de pectina.	37
<b>Cuadro 4.5-2</b>	Condiciones cromatográficas para la determinación de azúcares neutros presentes en el polisacárido péctico de cáscara de tuna.	38
<b>Cuadro 5.1-1</b>	Análisis proximal de la composición química de la cáscara de tuna y de polisacáridos pécticos. Datos promedio $\pm$ desviación estándar.	43
<b>Cuadro 5.2-1</b>	Distribución de las masas moleculares en el polisacárido péctico de cáscara de tuna mediante cromatografía líquida de tamiz molecular.	44

<b>Cuadro 5.3-1</b>	Contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico en polisacáridos pécticos extraídos de cáscara de tuna. Datos expresados en % peso/peso en base seca.	47
<b>Cuadro 5.4-1</b>	Contenido de minerales en polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna. Valores promedio de 3 réplicas experimentales $\pm$ desviación estándar.	48
<b>Cuadro 5.7-1</b>	Parámetros reológicos del modelo Ostwald de Waele de soluciones acuosas de polisacárido péctico de cáscara de tuna y pectinas cítricas comerciales. Determinaciones realizadas a 25°C. Valores promedio $\pm$ desviación estándar.	57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.6.1-1</b>	Estructura de la pared celular vegetal e interacción entre polisacáridos estructurales.	10
<b>Figura 2.6.1-2</b>	Pared celular Tipo I de la membrana celular de la mayoría de las plantas. Las microfibrillas de celulosa se encuentran formando enlaces con polímeros de hemicelulosa y xiloglucanos, embebidos en una matriz de pectina. Modelo propuesto por Carpita y Gibeaut (1993).	11
<b>Figura 2.6.3-1</b>	Representación convencional de la estructura básica de la pectina. (A) Propuesta convencional. (B) Estructura recientemente propuesta. (Willats <i>et al.</i> , 2006).	15
<b>Figura 2.8-1</b>	Mecanismo de gelificación de pectinas de bajo metoxilo y su interacción con iones de calcio. a) Cadena de pectina con bajo grado de esterificación. b) Alineación de las cadenas de pectina que facilitan la formación de la estructura de “caja de huevo” por la interacción de policationes. c) Interacción de dos cadenas de pectina con iones calcio. (Herbestreith y Fox, 2003).	19
<b>Figura 2.10-1</b>	Clasificación de los métodos empleados en la extracción de pectinas. (Contreras-Esquivel, 2003).	24
<b>Figura 4.1-1</b>	Cáscara de tuna triturada.	31

<b>Figura 4.2-1</b>	a) Polisacárido precipitado con etanol. b) Polisacárido recuperado utilizando tela organza.	33
<b>Figura 4.3-1</b>	a) Lavado del polisacárido con etanol utilizando vacío. b) Recuperación del polisacárido lavado.	33
<b>Figura 4.3-2</b>	Polisacárido seco triturado obtenido de la extracción de la cáscara de tuna.	34
<b>Figura 4.5-1</b>	Curva de calibración para la determinación del contenido de azúcares neutros mediante cromatografía líquida.	38
<b>Figura 5.2-1</b>	Curva de calibración con estándares de diferentes masas moleculares (símbolos rojos). Los símbolos verdes corresponden a los volúmenes de elución de las distintas fracciones del polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna. Datos obtenidos en cromatografía líquida de tamiz molecular, en la parte superior derecha se muestra el cromatograma de la muestra.	45
<b>Figura 5.5-1</b>	Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de ácido poligalacturónico (APG) y polisacárido péctico de cáscara de tuna (PT). El círculo verde indica el pico de absorción que corresponde a los grupos COOR. El círculo azul indica el pico de absorción de los grupos COO <sup>-</sup> . La región comprendida de 1200 a 1000 cm <sup>-1</sup> corresponde a la identificación de los enlaces C-OH, C-O-C y C-C de los azúcares neutros presentes en el polisacárido.	50

- Figura 5.5-2.** Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier. 53  
 Comparación con espectros de ácido poligalacturónico (A: DE 0%) y pectinas cítricas con grados de esterificación conocido (B: DE 30%, C: DE 60%, D: DE 90%, PT: polisacárido péctico de cáscara de tuna). La flecha en negro indica el pico de absorción que corresponde a los grupos COOR. La flecha en rojo indica el pico de absorción de los grupos COO<sup>-</sup>. El círculo naranja indica la región de la “*huella dactilar*” donde se observa la composición de azúcares neutros.
- Figura 5.6-1.** Análisis termogravimétrico en muestra de polisacárido 55  
 péctico de cáscara de tuna. El análisis se realizó usando una velocidad de calentamiento de 25 °C/min, en el intervalo de temperatura de 20°C a 900°C.
- Figura 5.7-1** Viscosidades de soluciones de polisacárido péctico 58  
 extraído de cáscara de tuna y pectinas comerciales; a) soluciones al 0.5% p/p, b) soluciones al 1.0% p/p, c) soluciones al 2.0% p/p. Determinaciones realizadas por duplicado en la geometría de cilindros concéntricos de doble pared, a 25°C. (PTuna: polisacárido péctico de cáscara de tuna, PCBM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin type LM-5 CS, 9% de metoxilación; PCAM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin con 70.8% de metoxilación).
- Figura 5.7-2** Curvas de flujo de soluciones de polisacárido péctico 59  
 extraído de cáscara de tuna y pectinas comerciales; a) soluciones al 0.5% p/p, b) soluciones al 1.0% p/p, c) soluciones al 2.0% p/p. Determinaciones realizadas

por duplicado en la geometría de cilindros concéntricos de doble pared, a 25°C. Ajuste al modelo de Ostwald de Waele. (PTuna: polisacárido péctico de cáscara de tuna, PCBM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin type LM-5 CS, 9% de metoxilación; PCAM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin con 70.8% de metoxilación).

## NOMENCLATURA

b.h.	Base húmeda	
b.s.	Base seca	
cm	Centímetros	
°C	Grados Celsius	
C	Masa del crisol seco	g
C <sub>c</sub>	Masa del crisol con cenizas	g
C <sub>m</sub>	masa de la cápsula con muestra húmeda	g
C <sub>ms</sub>	masa de la cápsula con muestra seca	g
Ca <sup>2+</sup>	Calcio	
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de calcio	
CDTA	Ácido trans-1,2-diaminociclohexano-N, N, N', N'-tetracético	
CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	Acetato de amônio	
DM	Grado de metoxilación	
EDTA	Sal disódica del ácido etilendiamino tetracético	
Da	Dalton	g/gmol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación	
FT-IR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier	
g	Gramos	
g/L	Gramos por litro	
°GL	Grados Gay Lussac	
H <sup>+</sup>	Iones hidronio	
Ha	Hectáreas	
HCl	Ácido clorhídrico	
HDM	Alto grado de metoxilación	
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico	
kDa	Kilo Dalton	

K	Índice de consistencia, Modelo Ostwald de Waele	(Pa s <sup>n</sup> )
kg	Kilogramos	
L	Litros	
LDM	Pectinas de bajo metoxilo	
m	Masa de la muestra	g
mal	Mililitros	
mm	Milímetros	
m/m	Relación masa-masa	
meq	Miliequivalentes	
mg	Miligramos	
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar	
mM	Mili molar	
M	Molaridad	
MW	Masa molar	
n	Índice de flujo	-
N	Nitrógeno total	
NR	No reportado	
p/p	Relación peso-peso	
p/v	Relación peso-volumen	
%p/p	Porcentaje peso-peso	
%p/v	Porcentaje peso-volumen	
pH	Potencial de hidrógeno	
ppm	Partes por millón	
PT	Polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna	
T	Temperatura	°C
t	Tiempo	(h, s, min)
TGA	Análisis termogravimétrico	
Ton	Toneladas	
Ton/Ha	Toneladas por hectárea	
v/v	Relación volumen-volumen	
R	Rendimiento de extracción	

rpm	Revoluciones por minuto
USAI	Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Facultad de Química de la UNAM
©	Company
®	Registrado
(-)	Adimensional

## SUBÍNDICES Y PREFIJOS

m	Mili ( $1 \times 10^{-3}$ )
$\mu$	Micro ( $1 \times 10^{-6}$ )

## SÍMBOLOS GRIEGOS

$\mu$	Viscosidad newtoniana	Pa s
$\eta$	Viscosidad no newtoniana	Pa s
$\sigma$	Esfuerzo	Pa
$\gamma$	Deformación de cizalla	-
$\dot{\gamma}$	Velocidad de corte	$s^{-1}$

## RESUMEN

Las pectinas son polisacáridos de origen vegetal ampliamente usados en la agroindustria por su capacidad de gelificación y sus propiedades viscosificantes. Son extraídas principalmente del bagazo de manzana o cáscara de cítricos, aunque se han propuesto nuevas fuentes de pectina entre los que se destacan la remolacha azucarera y el girasol. Recientemente se ha estudiado la cáscara de tuna como una nueva fuente de pectinas (Habibi *et al.*, 2004; Lozada-Carbajal, 2007), encontrando en esta última la presencia de polisacáridos pécticos con propiedades reológicas de interés agroindustrial. En base a esto, en el presente trabajo de investigación se determinó la composición química, así como el comportamiento reológico de polisacáridos extraídos de la cáscara de tuna variedad Alfajayucan predominante en el estado de Hidalgo, para proponer su uso como aditivo para la industria agroalimentaria.

Previo al proceso de extracción del polisacárido, se realizó un proceso de blanqueamiento a las cáscaras empleadas (con la finalidad de inactivar enzimas) durante 20 min en un baño maría. Las extracciones se realizaron en medio acuoso mediante procesos discontinuos a nivel tanque agitado de 5 L con un volumen de operación de 3 L. En la primera etapa de esta extracción (temperatura ambiente, 2 h) se eliminaron mucílagos (polisacáridos solubles en agua fría), en la segunda (60°C, 2 h) se eliminaron polisacáridos solubles en agua caliente y la tercera etapa (solución acuosa con 1% p/v ácido etilendiamino tetracético, 70 °C) consistió en la extracción de pectinas reactivas al calcio (pectinas gelificantes). En el proceso de extracción se manejó una relación cáscara húmeda/medio acuoso de 30 g/100 mL y agitación de 550 rpm, siguiendo la metodología de Lozada-Carbajal (2007). Concluida la tercera etapa de extracción, el residuo agotado se separó de la solución acuosa filtrando a través de un lienzo de organza. Los polisacáridos extraídos se recuperaron del medio de extracción utilizando etanol frío al 96 % v/v (grado industrial) en una relación 1:1.5 extracto filtrado-etanol, obteniéndose un precipitado esponjoso, el cual se sometió a varios lavados con etanol para eliminar restos de sales del medio de extracción; posteriormente se secó en una estufa a 45°C durante 24 horas. El polisacárido seco se trituró manualmente en un mortero hasta obtener un polvo fino. El polisacárido extraído fue analizado en su contenido de azúcares, ácido galacturónico, masa molar y determinación de grupos funcionales a través de cromatografía de líquidos y espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR). El polisacárido presentó la siguiente composición química: 61.24% de ácido galacturónico, 15.40% de galactosa, 9.74% arabinosa, 4.2% ramnosa, 1.48% xilosa y 0.92% glucosa, con una distribución amplia de masas molares: 1320 kDa (30.6%), 318 kDa (38%), 33.7 kDa (19.4%) y 4.2 kDa (12.1%). Los análisis de FTIR confirmaron la presencia de un polímero con los rasgos estructurales típicos de pectinas, estimándose un grado de metoxilación en el polisacárido péctico de tuna de alrededor al 30%. Las propiedades reológicas al flujo demostraron que dispersiones acuosas (0.5, 1 y 2% p/p) del polisacárido obtenido de la cáscara de tuna presenta índices de consistencia ( $K: 0.01-1.56 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ ) y de pseudoplasticidad ( $n: 0.92-0.6$ ) superiores a pectinas cítricas comerciales líderes en el mercado de estabilizantes alimentarios.

## **Capítulo 1**

### **INTRODUCCIÓN**

#### **1.1 Introducción**

Con el nombre de Tuna se identifica generalmente, tanto a la planta como al fruto del cactus *Opuntia*, encontrando numerosas variedades de esta especie. La tuna se ha considerado como un recurso nutricional importante, tanto para el ser humano como para el ganado, sobre todo en América Latina. En México, representa una alternativa productiva para la región árida y semiárida, debido a la extensa gama de variedades de tuna que existen en el país, lo que le brinda una ventaja para liderar los mercados internacionales de este producto (CONAZA 1996). No obstante de que México cuenta con técnicos capacitados para un adecuado aprovechamiento de esta fruta, no ha logrado mejorar su presencia en los mercados internacionales, consumiéndose la mayor parte de la tuna como fruta fresca en el mercado nacional.

La producción de tuna en el país ha incrementado en más del 47% en los últimos 15 años, concentrándose en la región centro-norte el 50% de la superficie cultivada y situándose en cuarto lugar de producción nacional el estado de Hidalgo de acuerdo a estadísticas del SIAP (2008). En reportes recientes se estima que más del 60% de la fruta se pierde en el campo debido a la saturación del mercado en los meses de producción, disminuyendo los precios del fruto y haciendo incosteable su cosecha (Lozada-Carbajal, 2007). Aunado a esto, no se han desarrollado tecnologías de conservación y/o aprovechamiento del fruto a nivel industrial, por lo que es importante contar con tecnologías viables para el aprovechamiento integral y eficiente de este fruto mexicano. De los productos que se pueden obtener a partir de la tuna destacan: mucílagos, pectinas, celulosa,

colorantes (betacianinas utilizadas en fármacos y cosméticos), aceite, etc. Para la obtención de mucílagos y pectinas, lo que se tiene hasta el momento sólo son informes técnicos sobre la evaluación y optimización de algunos procesos de extracción de estas sustancias, que pueden ser utilizadas como gelificantes y espesantes en la industria alimentaria.

Estudios químicos y fisicoquímicos recientes de polisacáridos extraídos de la cáscara de tuna revelan que estos compuestos presentan características similares a las pectinas. Sin embargo, existen pocos reportes en la literatura acerca de la estructura y composición química de estas pectinas y cómo estas características químicas determinan el comportamiento reológico de dichos polímeros en solución acuosa. El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación que busca desarrollar tecnologías de extracción de polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna, así como caracterizar la composición química y el comportamiento reológico de estos biopolímeros con potencial uso en la agroindustria (i.e. alimentos, cosméticos, fármacos, entre otros). El proyecto de investigación también espera contribuir al desarrollo de tecnologías limpias para la obtención de aditivos inocuos de fuentes naturales de nuestro país, lo cual conlleve a una revaloración del cultivo de la tuna en México.

## Capítulo 2

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Clasificación taxonómica de la tuna

Las cactáceas pertenecen al orden de las *Caryophyllales*, su ubicación filogenética dentro de este orden es indisputable debido a que éstas y las otras familias en este orden comparten características (sinamorfismos) que no se presentan en ningún otro orden de las angiospermas (Clements *et al.*, 1994; citados por Wallace y Gibson 2002). Son una familia de plantas constituida por alrededor de 1600 especies cuyos miembros se encuentran distribuidos en diversas partes del mundo; se cultivan en más de 30 países, entre los cuales figuran México, Argentina, Perú, Colombia, Estados Unidos, Sudáfrica, Egipto, Israel, Chile, España y Portugal (CONAZA 1996; SAGARPA 1999).

Dentro de las cactáceas existen alrededor de 350 especies que tienen potencial como cultivo para la obtención de frutos, vegetales o forraje (Granados y Castañeda 1991). Las cactáceas comestibles se pueden clasificar en tres tipos: las tunas, las pitayas (trepadoras) y las pereskias (columnares) De un total aproximado de 104 especies de *Opuntia* y 10 de *Nopalea* clasificadas en nuestro país, se utilizan 24 especies para consumos diversos, empleándose como nopal para forraje, tuna como fruta y nopal para verdura. Actualmente, la mayor parte de los frutos comercializados pertenece a la especie *Opuntia ficus-indica* (Pimienta-Barrios 1994).

## **2.2 Características generales de la variedad *Opuntia ficus-indica* spp.**

Las plantas del género *Opuntia* se caracterizan por crecer en tierras marginales arenosas calcáreas, poco profundas y con pH alcalino (6.5-8.5), condición que puede hacer variar los colores de las flores (Granados y Castañeda 1991; Mohamed-Yasen *et al.*, 1996). Se desarrollan bajo condiciones extremas, a temperaturas entre 0 °C y 34 °C, con un rango óptimo de 11 a 27 °C, y una precipitación media anual distribuida entre 400 a 800 mm, altitudes de 0 a 2675 m.s.n.m., alcanzando su mejor desarrollo entre los 1700 a 2500 m.s.n.m., siendo las zonas semiáridas donde se desarrollan mejor.

Por las características morfológicas que presenta la planta, lo que comúnmente se utiliza es su fruto (tuna), sus brotes tiernos (nopalitos) y sus pencas o cladodios (forraje). La tuna es una baya polispérmica, carnosa, más o menos ovoide, desnuda, espinosa, normalmente jugosa y comestible, cuyas dimensiones varían según la especie, al igual que la coloración que inicialmente es verdosa y se modifica cuando madura (CONAZA 1996; ASERCA 1999).

## **2.3 Composición química de la tuna**

El mercado de la tuna se ve fuertemente influenciado por las épocas de maduración de la fruta, lo que determina la disponibilidad de frutos de calidad, siendo uno de los principales problemas la alta perecibilidad del fruto. La tuna, es un fruto no-climatérico que no presenta cambios importantes en su contenido de azúcares en poscosecha; si la cosecha se efectúa antes de su momento óptimo, el dulzor final del fruto así cosechado no será el adecuado, por lo que disminuye su calidad. En el Cuadro 2.3-1 se presenta la composición química de frutos de diferentes especies de *Opuntia*.

**Cuadro 2.3-1** Composición química de frutos de distintas especies del género *Opuntia* (Lakshminarayana *et al.*, 1980).

Componentes	Especies		
	<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.	<i>O. amyclaea</i> Engelm.	<i>O. streptocantha</i> Lem.
Humedad (%)	84.7	-	87.0
°Brix	14.8	15.5	-
pH	6.2	6.6	-
Glucosa (%)	7.8	8.2	6.0
Fructosa (%)	7.6	6.7	5.7
Sacarosa (%)	0	1.1	0.1
Azúcares totales (%)	15.4	16.0	11.9
Vitamina C (mg/100g)	31.7	22.0	-

## 2.4 Producción de tuna

### 2.4.1 Producción Mundial

En el mercado internacional, participan sólo 7 países productores, el principal país productor de tuna es México, aportando el 44% del total, seguido de Túnez con 12.8%, Argentina con 7.7%, Italia con 6.6%, Sudáfrica con 3%, y Chile con 0.8%, en el cuadro 2.4.1-1, se presentan con una estimación de superficie, rendimientos, exportación, importación y consumo *per cápita*.

**Cuadro 2.4.1-1** Principales países que participan en la producción mundial de tuna (Gatica, 2006).

País	Superficie (Ha)	Rendimiento (Ton/Ha)	Producción (Ton)	Exportación (Ton)	Importación (Ton)	Consumo per cápita (Ton)
México	72 500	6.75	489 500	7 500	0	3.69
Italia	2 500	20	50 000	15 000	100	0.61
Sudáfrica	1 500	10	15 000	250	0	0.4
Chile	1 000	7	7 000	40	0	0.57
Israel	300	25	7 500	60	0	2.98
Colombia	200	10	2 000	100	0	-
E. U. A.	200	20	4 000	100	8 000	0.6
Total	78 200	7.35	575 000	23 050	8 100	-

La exportación que representa sólo el 1.5 % de lo producido en México, se destina principalmente a Estados Unidos de Norteamérica y en menor proporción a

Canadá. Italia ocupa el primer lugar en cuanto a las exportaciones, Cuyos destinos son Francia, Bélgica, Alemania, Suiza, Holanda, Polonia, Checoslovaquia, Hungría, Rumania, Estados Unidos de Norteamérica, Canadá y del Cercano Oriente, entre ellos de manera importante Arabia Saudita. Debido a la tecnología desarrollada en fertiirrigación, ha logrado extender la época de producción a 10 meses del año, lo que le permite entrar al mercado de exportación cuando la oferta de otros países es mínima, logrando precios más elevados (Gatica, 2006).

#### 2.4.2 Producción Nacional

La mayoría de los países basan su producción de tuna casi totalmente en una sola variedad, en cambio, México, cuenta con una gama de variedades, que le permite ofrecer al mercado tunas blancas, amarillas, anaranjadas y rojas, mismo que representa una ventaja del país para liderar los mercados internacionales de este producto (CONAZA 1996; ASERCA 1999). Las principales especies de nopales tuneros cultivados en México son *Opuntia amyclaea* (blanca o alfajayucan), *O. ficus-indica* (de castilla), *O. joconostle* (tuna agria o xoconostle), *O. megacantha* (amarilla) y *O. streptocantha*, especies cuyos frutos se recolectan en su ámbito. Las tunas que se recolecta en campo de forma natural son *O. hyptiacantha*, *O. leucotricha* y *O. streptacantha* (Bravo-Hollis 1978). En México la superficie cultivada para producción de tuna se ha incrementado en más del 47% en los últimos 15 años con una tasa de crecimiento promedio anual del 9.64%, concentrándose en la región centro-norte el 50% de la superficie cultivada. En el país, en la producción de tuna participan 17 estados, sin embargo sólo en nueve se concentra el 87% de la superficie y el 96% de la producción (SIACON 2004). Estos estados se agrupan en tres regiones de producción (Cuadro 2.4.2-1) de acuerdo a las características fisiológicas y las condiciones climáticas y edafológicas (SAGARPA 2001).

**Cuadro 2.4.2-1** Agrupación de los estados donde se produce tuna en México (SAGARPA 2001).

Zona	Estado
Sur	Puebla, Oaxaca

---

Centro	Hidalgo, Estado de México
Centro-Norte	Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco, Guanajuato, Aguascalientes

---

Durante la década 1990-2001, de acuerdo a estadísticas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR), los estados de México y Zacatecas presentaron una producción destacable de tuna aportando cerca del 40% y 30% respectivamente de la producción nacional de tuna (principalmente cardona *Opuntia streptacantha*), además de incrementarse la producción de tuna en los estados de México, Zacatecas, Puebla e Hidalgo durante el periodo de 1996 a 2003.

En ese periodo el estado de Hidalgo se ubicó como tercer productor de tuna a nivel nacional con rendimientos promedio de 6.89 Ton/Ha exceptuando el periodo de cosecha 2000-2001 en el que ocupó el cuarto lugar en producción (Lozada-Carbajal 2007). En el anuario estadístico de la producción agrícola de SAGARPA se reporta para el año 2007 una producción nacional de tuna de 325,663.33 Ton. En ese año en el estado de Hidalgo se cosecharon 23,778.4 Ton de tuna, ubicándose como el cuarto estado productor de tuna a nivel nacional (SIAP, 2008).

El mercado nacional de tuna se ve fuertemente influenciado por las épocas de maduración de la fruta en las diferentes regiones del país, lo que determina el tiempo de cosecha descrito brevemente en el cuadro 2.4.2-2. Las primeras tunas que aparecen en el mercado son de la cosecha de la región sur y las más tardías de la región centro-norte, región que cuenta con mayor variedad y colores característicos, lo que permite acceder a otro tipo de mercados y ampliar la posibilidad de elección al consumidor.

**Cuadro 2.4.2-2** Características físicas y morfológicas de cosecha de distintas variedades de tuna producidas en México (SAGARPA, 2001).

---

Variedad	Color cáscara	Color pulpa	Forma	Cosecha
Reina	Verde amarilla	Blanca	Periforme aplanada	Julio-Agosto

---

Cristalina	Verde amarilla	Blanca	Periforme pedunculada	Agosto-Septiembre
Esmeralda	Verde amarilla	Blanca	Periforme aplanada	Agosto-Septiembre
Burrona	Verde amarilla	Blanca	Periforme aplanada	Agosto
Chapeada	Rosa amarilla	Blanca	Periforme aplanada	Julio-Agosto
Fafayuco	Amarillo café	Blanca	Periforme aplanada	Septiembre-Octubre
Naranjona	Anaranjada	Anaranjada	Periforme aplanada	Agosto
Centenario	Naranja	Anaranjada	Abobada	Agosto
Amarilla	Amarillo naranja	Anaranjada	Periforme aplanada	Agosto
Roja	Verde roja	Roja	Periforme aplanada	Agosto
Pelona	Verde roja	Roja	Periforme aplanada	Agosto
Charola	Púrpura	Púrpura	Abobada	Septiembre-Noviembre
Cardona	Púrpura	Púrpura	Esferoidal aplanada	Julio-Septiembre

## 2.5 Productos procesados a partir de la tuna

Los factores que han inhibido el desarrollo de la industria procesadora de tuna radican en buena medida en las dificultades del manejo poscosecha y en los problemas tecnológicos para la elaboración de néctares, jugos, confituras (en especial la eliminación de la semilla y la obtención de un producto homogéneo y estable) y el escaso desarrollo del mercado para estos productos procesados (Madjoub *et al.*, 2001a). Sin embargo, el aprovechamiento potencial del nopal y de la tuna a nivel industrial abarca sectores como la industria farmacéutica, biotecnológica, alimentaria y zootecnista. Los productos más comunes encontrados en los mercados regionales en México, son: el queso de tuna, la melcocha y el colonche, así como los frutos cristalizados, mientras que las cáscaras son empleadas en la formulación de alimento para ganado (CONAZA 1996; ASERCA 1999). De los productos que se pueden obtener a partir de la tuna destacan: mucílagos, pectinas, celulosa, colorantes (betacianinas utilizadas en fármacos y cosméticos), aceite comestible (a partir de la semilla) y azúcares (glucosa y fructosa) que se pueden emplear para la producción de proteína unicelular, alcohol, aguardiente y jarabes fructosados (SAGARPA, 2001).

Con relación a la obtención de mucílagos y pectinas, lo que se tiene hasta el momento sólo son informes técnicos sobre la evaluación y optimización de algunos procesos de extracción de estas sustancias, que pueden ser utilizadas

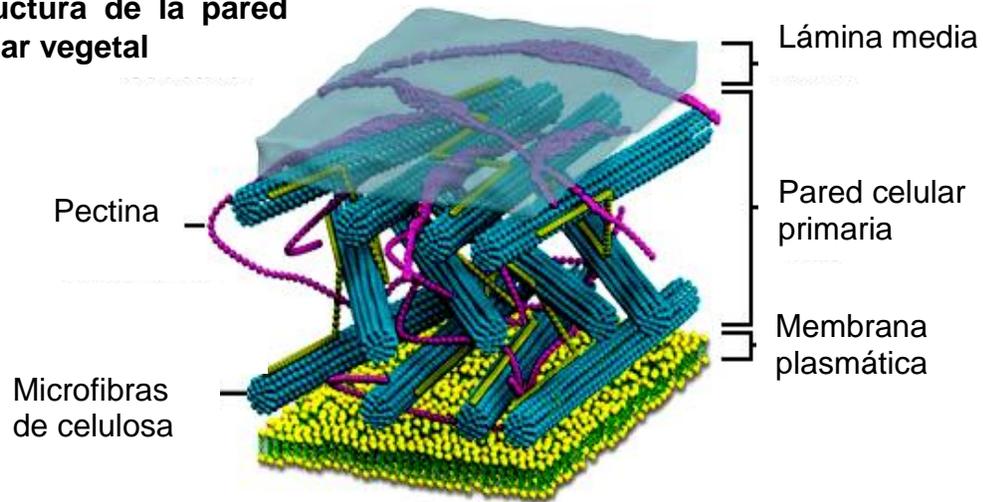
como agentes gelificantes y espesantes en la industria alimentaria. Sin embargo, hasta el momento, no se han encontrado reportes de empresas que realicen dichos procesos.

## **2.6 Generalidades de pectinas**

### **2.6.1 La pared celular vegetal**

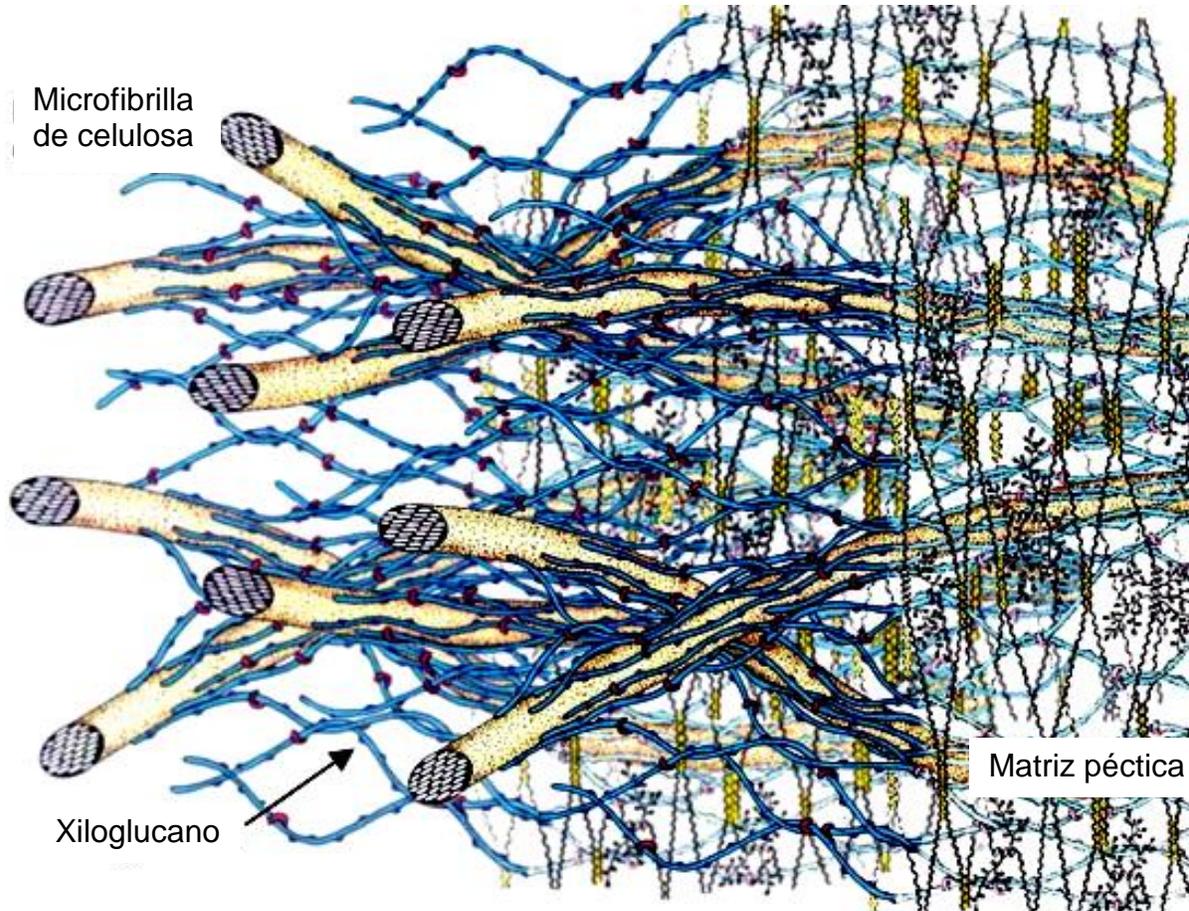
La pared celular es el rasgo más característico de las células vegetales. Se trata de una estructura organizada, formada por una red tridimensional de microfibrillas de celulosa embebidas en una matriz constituida por polisacáridos, proteínas y fenoles en una solución ligeramente ácida (Azcon-Bieto y Talón 1993b). En la figura 2.6.1-1 se presenta la interacción entre los componentes de la pared celular vegetal primaria del modelo "Mosaico fluido" propuesto por Singer y Nicolson en 1972 (Solomon *et al.*, 2001), en el que se observa la estructura en tres capas y la interacción entre éstas. De acuerdo al modelo, la pared celular vegetal presenta tres partes fundamentales: la pared primaria, la pared secundaria y la lámina media. La pared celular primaria (Figura 2.6.1-1) se describe como la combinación de dos fases; una fase de microfibrillas de celulosa y proteínas, que forman un marco insoluble, y una fase compuesta de polisacáridos no celulósicos unidos mediante puentes de hidrógeno que permiten la regulación de la resistencia y porosidad de las células a través de un control de separación entre microfibrillas. Los polisacáridos pécticos son los encargados de rellenar la matriz mediante la formación de un gel, mientras el homogalacturonano la refuerza por interacción con iones de calcio que los convierte en responsables de la adhesión celular y por tanto, de la integridad de los tejidos.

### Estructura de la pared celular vegetal



**Figura 2.6.1-1** Estructura de la pared celular vegetal e interacción entre polisacáridos estructurales. (Davidson, 2008).

La lámina media es la capa más externa de la pared celular y la primera en sintetizarse. Esto ocurre durante la etapa final del proceso de división celular. En este espacio se combinan la pectina y el calcio para mantener la permeabilidad diferencial de la célula. Algunas células especializadas producen una capa adicional al comienzo de la diferenciación, conocida como pared celular secundaria que se deposita cuando la célula deja de crecer, aunque no siempre presenta un grosor homogéneo en las diferentes regiones de la superficie celular (Azcon-Bieto y Talón 1993a; Goldberg *et al.*, 1996; Handford 2006). Los modelos de la arquitectura de la pared celular tales como el propuesto por Carpita y Gibeaut (1993) (figura 2.6.1-2), postulan la existencia de tres redes que interactúan formando una matriz de polisacáridos: 1) celulosa y xiloglucanos que confieren a la pared celular resistencia a la tensión, en ésta, la celulosa forma uniones entre las microfibrillas por interacciones de puentes de hidrógeno; 2) una red de polisacáridos pécticos con puentes de unión constituidos por enlaces de calcio y uniones éster, esta red es resistente a la compresión; y 3) red de proteínas estructurales unidas en forma covalente por puentes disulfuro, principalmente (Azcon-Bieto y Talón 1993a).



**Figura 2.6.1-2** Pared celular Tipo I de la membrana celular de la mayoría de las plantas. Las microfibrillas de celulosa se encuentran formando enlaces con polímeros de hemicelulosa y xiloglucanos, embebidos en una matriz de pectina. Modelo propuesto por Carpita y Gibeaut (1993).

Los principales polímeros que constituyen las paredes celulares son: celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina.

#### **a) Celulosa**

Es el componente fibrilar presente en las paredes celulares vegetales, constituida por un polímero lineal de glucosas unidas por enlaces  $\beta$ , (1  $\rightarrow$ 4). La ausencia de cadenas laterales y la estructura lineal permite la formación de microfibrillas que se hayan embebidas en una matriz de polisacáridos y glicoproteínas. Estos componentes de la matriz interaccionan fundamentalmente a través de enlaces de hidrógeno con la microfibrillas de celulosa y mantienen así la estructura de la pared (Figura 2.6.1-2) (Pilnik y Voragen 1970; Schols y Voragen 2002).

#### **b) Hemicelulosa**

La hemicelulosa consiste en cadenas lineales de 4-D-xilosa con ramificaciones cortas mayoritariamente de arabinosa, ácido glucurónico y residuos de ácido 4-O-metil-glucurónico, tiene como función unir las microfibrillas de celulosa entre sí, constituyendo una matriz que integra la pared celular (Azcon-Bieto y Talón 1993b) y puede clasificarse en dos tipos: hemicelulosa A (fracciones insolubles en agua, compuestas de cadenas de xilanos con una pequeña proporción de residuos de ácidos glucurónico) y hemicelulosa B (fracciones solubles en agua compuestas principalmente por arabinoxilanos ácidos) (Schols y Voragen 2002). Comúnmente se encuentran en forma de xilanos (xilosa), arabinoxilanos (arabinosa-xilosa), arabinogalactanos (arabinosa, galactosa), glucomananos (glucosa-manosa), xiloglucanos (xilosa-glucosa) y galactoglucomananos.

### **c) Lignina**

Es un polímero constituido químicamente por fenoles y alcoholes aromáticos que confieren rigidez a la pared celular. La lignificación ocurre en tejidos de soporte mecánico en la planta y como parte de un mecanismo de defensa que poseen contra el daño por agentes patógenos, además de depositarse sobre la pared celular formando una capa protectora llamada cutícula (formada por cutina y suberina, principalmente), brindando impermeabilidad al agua.

### **d) Pectina**

Es un heteropolisacárido estructural que se encuentra entre la pared celular primaria y la lámina media de las células vegetales. Semejante a la mayoría de otros polisacáridos de la planta, las pectinas son polidispersas en su composición y tamaño molecular, y heterogéneas con respecto a la estructura química y peso molecular (Pilnik y Voragen, 1970; Azcon-Bieto y Talón 1993b; Chang *et al.*, 1994). Las pectinas actúan como agentes de hidratación y material de unión de la red celulósica, por lo que se consideran agentes cementantes de la pared celular (Seymour *et al.*, 1993; Contreras-Esquivel *et al.*, 2006). Tienen la capacidad de interactuar con la hemicelulosa, lignina y celulosa, creando una estructura rígida a lo largo de la célula (Handford, 2006), además de determinar la porosidad de la

pared controlando la difusión de ciertos compuestos y proporcionar cargas que modulan el pH de la pared (Habibi *et al.*, 2004a). En general, todas las pectinas presentan cierto grado de esterificación (60-90%) que disminuye conforme avanza la maduración del fruto y juega un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales. La reducción de la esterificación de las pectinas, tiene como consecuencia un aumento en la adhesión, ya que la formación de grupos carboxilo libres incrementa la posibilidad de formación de enlaces entre polímeros.

### **2.6.2 Composición química de las pectinas**

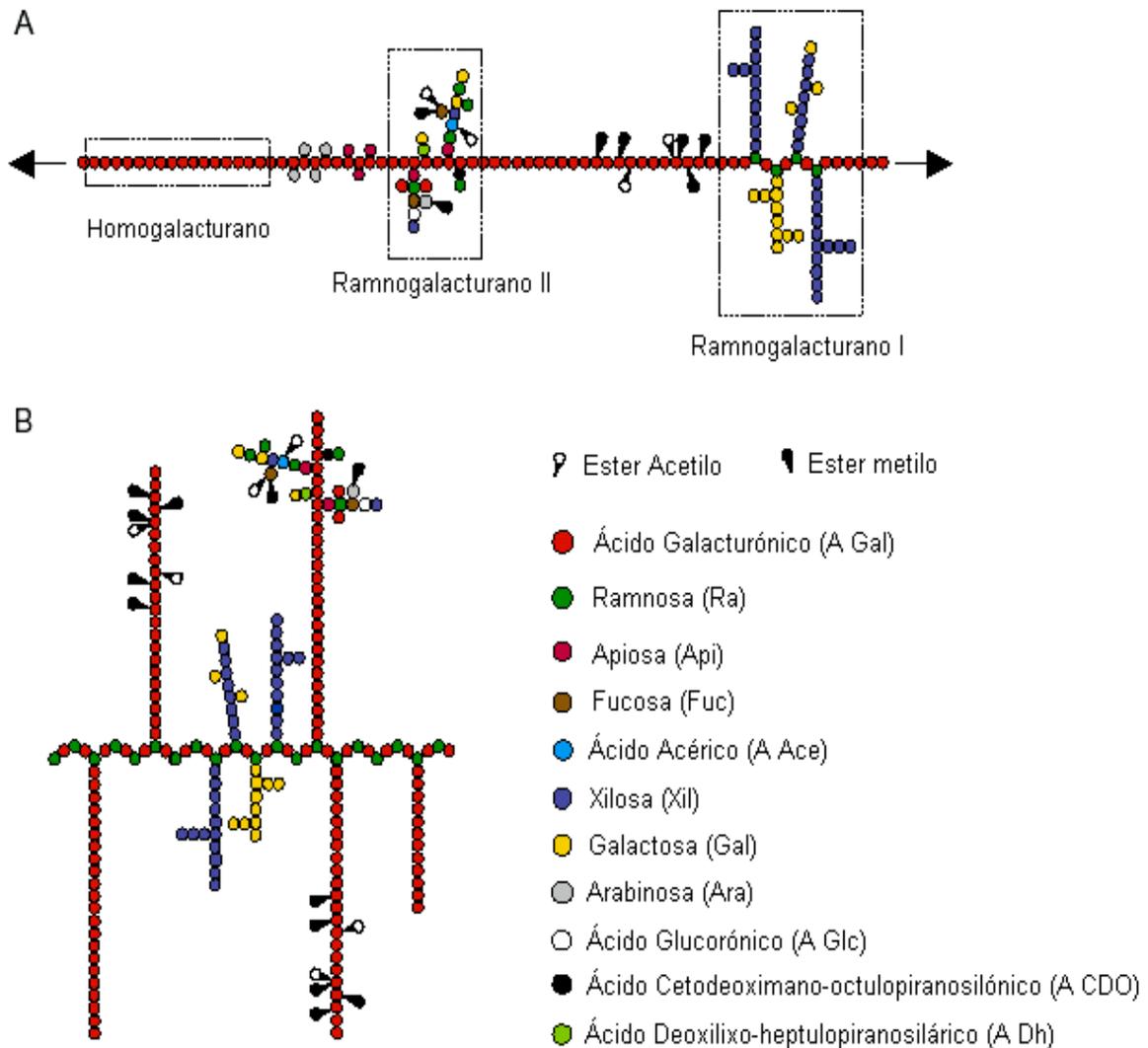
La pectina es una macromolécula compuesta por heteropolisacáridos, conformada por un esqueleto principal de residuos de ácido poligalacturónico unidos por enlaces  $\alpha$ , (1 $\rightarrow$ 4) (Zhong *et al.*, 1997; Schols y Voragen 2002; Habibi *et al.*, 2004a; Contreras-Esquivel *et al.*, 2006; Handford 2006). Es un polímero heterogéneamente ramificado que puede encontrarse como ácido con el grupo carboxilo libre (-COOH) a pH < 3, en forma ionizada (COO<sup>-</sup>) a pH > 3, o bien con el carboxilo esterificado con metanol (-COOCH<sub>3</sub>), aunque algunos grupos carboxilo pueden estar parcial o completamente neutralizados con iones sodio, potasio o amonio; presentando mayor reactividad las pectinas que presentan el grupo carboxilo ionizado (Azcon-Bieto y Talón, 1993a,b; Schols y Voragen 2002; Contreras-Esquivel *et al.*, 2006). Las pectinas son polisacáridos ácidos complejos debido a su contenido en grupos carboxilo libres, los cuales proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico. Aún dentro del propio vegetal existe una distribución de las pectinas, encontrándose las más esterificadas en la parte más interna del vegetal y las menos esterificadas en la periferia.

### **2.6.3 Elementos estructurales de la pectina**

La pectina es un polímero lineal que contiene cientos de unidades de azúcares neutros a lo largo de la cadena, que interrumpen su continuidad a través de enlaces glucosídicos generando moléculas con alta masa molecular. El ácido galacturónico es el principal constituyente de la molécula, generalmente son restos de ramnosa que producen una irregularidad en la estructura de la cadena formando ramificaciones o cadenas laterales (ramnogalacturonano I y II) (Schols y Voragen 2002; Habibi *et al.*, 2004b; Paulsen y Barsett 2005; Contreras-Esquivel *et al.*, 2006) denominadas “regiones densas o pilosas”, y regiones con pocas cadenas laterales llamadas “regiones lisas” u homogalacturonano (Vilariño *et al.*, 1992), descritas esquemáticamente en la Figura 2.6.3-1. Las pectinas ácidas están constituidas por una alta proporción de restos de ácido galacturónico, estructuralmente presentan tres regiones:

#### **a) Homogalacturonano (HG)**

Las cadenas constituidas únicamente por ácido galacturónico reciben el nombre de homogalacturonano y su longitud es muy variable. Los grupos carboxilo de la cadena pueden encontrarse esterificados con metanol o libres. Los grupos carboxilo libres pueden estar disociados y dar lugar a la formación de puentes con calcio. Las cadenas de homogalacturonano no son muy frecuentes en las paredes celulares ya que normalmente presentan restos de ramnosa intercalados, enlazados a la cadena principal (Pilnik y Voragen 1970; Azcon-Bieto y Talón 1993b; Voragen *et al.*, 1995; Goldberg *et al.*, 1996; Schols y Voragen 2002; Paulsen y Barsett 2005).



**Figura 2.6.3-1** Representación de la estructura básica de la pectina (A) Propuesta convencional. (B) Estructura recientemente propuesta (Willats *et al.*, 2006).

### b) Ramnogalacturonano I (RGI)

Presenta mayor proporción de ramnosa a lo largo de la cadena, a menudo, en posición alternante, siendo éstos los puntos de anclaje de cadenas laterales. Aproximadamente la mitad de los mismos pueden estar unidos a cadenas constituidas por arabinosa y galactosa con diferente grado de polimerización. Debido a que los restos de ramnosa se presentan con frecuencia variable, las pectinas presentan regiones más ramificadas que otras (Azcon-Bieto y Talón 1993b; Schols y Voragen 2002), por lo que presenta una distribución heterogénea,

generalmente aparece unido al homogalacturonano mediante enlaces glicosídicos. Entre el 20 y el 80% de las ramnosas llevan unidas cadenas laterales que pueden tener entre 1 y 50 residuos que son oligosacáridos mayoritariamente neutros.

### **c) Ramnogalacturonano II (RGII)**

Polisacárido pequeño de estructura muy compleja que presenta mayor número de azúcares y enlaces diferentes. Está formado por ácido galacturónico, ramnosa, arabinosa, galactosa y pequeñas cantidades de azúcares poco frecuentes como apiosa o ácido acérico (Schols y Voragen 2002). A diferencia del RGI, los restos de ramnosa pueden presentar enlaces 2, 3, 4 o bien ser terminales (Azcon-Bieto y Talón 1993b). Las pectinas de naturaleza neutra, están constituidas por arabinosa, galactosa o ambas. Los **arabinanos** están formados por restos de arabinosa unidos por enlaces 1-5, con algunos unidos en la posición 2 y 3. Los **galactanos** están formados por una cadena de 1-4 galactosa con algunas ramificaciones de galactosa. Pueden presentarse sustituciones de arabinano en proporción variable, recibiendo el nombre de arabinogalactano I (Voragen *et al.*, 1995; Goldberg *et al.*, 1996). El arabinogalactano II es más abundante y contiene restos de galactosa y arabinosa (Schols y Voragen 2002; Contreras-Esquivel *et al.*, 2006). Ambos azúcares pueden asociarse mediante enlaces éster al ácido ferúlico, lo que posibilita la formación de enlaces de distintas cadenas mediante puentes diferulil por acción de la peroxidasa presente en la pared celular (Schols y Voragen 2002).

## **2.7 Clasificación química de las pectinas**

El parámetro químico más importante que caracteriza las cadenas de la pectina es el grado de esterificación de los grupos carboxílicos con metanol, además de que en algunas pectinas los grupos hidroxilo se encuentran parcialmente acetilados. El grado de metoxilación (DM) de una pectina es definido como el número de moles de metanol por cada 100 moles de ácido galacturónico, es decir, el número de grupos carboxilo esterificado por cada 100 grupos galacturónicos (Voragen *et al.*, 1995). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la

Alimentación (FAO 1992), Codex de Química de Alimentos (FCC 1996) y la Unión Europea (EU 1998), establecen que para que un polisacárido sea considerado “pectina” al menos debe contener en su estructura un 65% de ácido galacturónico (Schols y Voragen 2002; Williats *et al.*, 2006).

El grado de esterificación divide comercialmente las pectinas en dos grupos, ya que éste influye significativamente en el mecanismo de gelificación, sus propiedades y aplicaciones. Por lo que las pectinas de alto metoxilo (HDM) son aquellas que contienen de 50 a 80% de sus grupos carboxilo de manera esterificada, mientras que las pectinas de bajo metoxilo (LDM) sólo presentan de 18 a 50% de esterificación. Una pectina con 100% de metoxilación es considerada como protopectina, mientras que si el grado de metoxilación es de 0% se considera un ácido péctico (Goldberg *et al.*, 1996).

Comercialmente, se utilizan pectinas amidadas que poseen menos del 50% (18-45%) de unidades de ácido poligalacturónico metilesterificadas. Estas provienen de pectinas de bajo metoxilo, que han sido desmetoxiladas con amoníaco en lugar de ácido. Durante la desmetoxilación, parte de los grupos ésteres han sido reemplazados por grupos amida, los cuales modifican las propiedades gelificantes en comparación con las pectinas desmetoxiladas con ácido, pero también requieren iones de calcio para gelificar (Charley 1995; Schols y Voragen 2002).

Aunque si bien las pectinas son identificadas por su grado de metilación (DM), los términos gelificación lenta y gelificación rápida aún son ampliamente utilizados en la industria. La gelificación lenta se refiere a una pectina cuyo DM se encuentra dentro de un rango de 60 a 65, mientras que gelificación rápida se refiere a pectinas dentro de un rango de DM de 68 a 75.

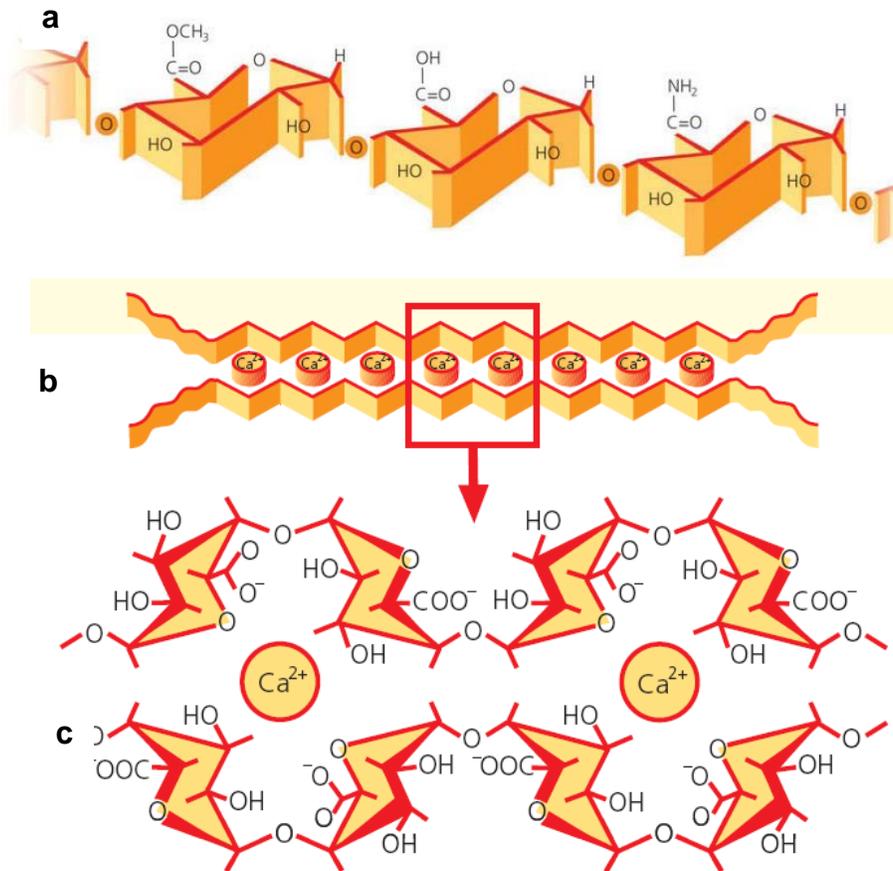
## **2.8 Mecanismos de gelificación de las pectinas**

La gelificación es una propiedad tecnológica propia de las proteínas y polisacáridos que desempeña un papel importante en la elaboración de un gran número de alimentos. Un gel es un sistema integrado por dos fases, una fase líquida contenida dentro de una matriz sólida formada por grandes moléculas unidas entre sí por enlaces de hidrógeno, puentes iónicos o bien asociaciones hidrofóbicas. En las pectinas, la propiedad de gelificación está determinada por factores intrínsecos, tales como su peso molecular y grado de esterificación (que a su vez dependen de la materia prima y proceso de extracción) y factores extrínsecos tales como el pH, las sales disueltas y la presencia de azúcares (Charley 1995).

La formación de geles de pectina se debe a la existencia de algunas áreas a lo largo de la estructura lineal de la molécula, capaces de formar complejos con otras moléculas de pectina. Estas áreas se denominan zonas de unión cuya extensión es muy limitada, lo que favorece la formación de estructuras tridimensionales en lugar de precipitados (Jarvis 1992). Las pectinas son hidrocoloides fuertemente hidratados cuando se encuentran en dispersión acuosa, ya que las moléculas de agua se unen a los grupos hidroxilo de estas macromoléculas por medio de puentes de hidrógeno.

Las pectinas son moléculas con carga negativa, lo que las conduce primero a desplegarse, incrementando su radio de giro y así aumentar la viscosidad, y luego a rechazarse una con la otra. Estos factores concurren para mantener las moléculas en estado disperso, cuando se reducen las cargas e hidratación, los filamentos de pectinas se aproximan los unos a los otros y se enlazan entre sí, formando una red tridimensional amorfa, sólida, que retiene en sus mallas la fase líquida. Esta estructura tridimensional de pectina es mejor conocida como gel péctico (Goldberg *et al.*, 1996). Las pectinas de bajo metoxilo pueden formar geles en presencia de calcio, mientras que las de alto metoxilo gelifican a pH ácido (en

donde la repulsión electrostática entre los grupos ácido es mínima) y en presencia de una concentración elevada de azúcar. Cuando la proporción de grupo metoxilos es baja y por lo tanto la proporción de grupos  $\text{-COO}^-$  disponibles es elevada (Figura 2.8-1a), los enlaces que se establecen entre moléculas pécticas son enlaces iónicos, asegurados por cationes divalentes, principalmente calcio, conformando la estructura conocida como “caja de huevo” (Figura 2.8-1b). De esta manera se crea la estructura básica del gel, en la cual a su vez, los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno (Schols y Voragen 2002).



**Figura 2.8-1** Mecanismo de gelificación de pectinas de bajo metoxilo y su interacción con iones de calcio. a) Cadena de pectina parcialmente esterificada. b) Alineación de las cadenas de pectina que facilitan la formación de la estructura de “caja de huevo” por la interacción de policationes. c) Interacción de dos cadenas de pectina con iones calcio (Herbestreith y Fox, 2003).

Siempre que la longitud de las moléculas de pectina de bajo metoxilo sea suficiente, se puede lograr la gelificación con cantidades de calcio inferiores a 0.1% aún en ausencia total de ácido y azúcar para gelificar, pero una pequeña cantidad de calcio adicional proporciona mayor rigidez al gel puesto que favorece la interacción carboxil-calcio (Ralet *et al.*, 2001). Sin embargo, la concentración de calcio es importante hasta llegar a una cierta cantidad, que depende de cada tipo de pectina, y que se conoce como "saturación de calcio". Suele estar en torno a las 500 ppm. Por encima, una mayor cantidad de calcio no tiene efecto, o incluso en algunos casos puede llegar a debilitar el gel. De modo contrario, cuando la molécula tiene una elevada proporción de metoxilo, el grado de hidratación se reduce mediante la adición de sacarosa y la disminución de carga eléctrica se consigue por un aporte de iones  $H^+$  o dicho de otra forma, de ácido.

El enlace de unas moléculas pécticas a otras queda básicamente asegurado por uniones de hidrógeno. Estos son enlaces débiles y los geles pécticos de este tipo se caracterizan por una gran plasticidad, debido a la movilidad de unas moléculas con relación a otras (Goldberg *et al.*, 1996). La adición de sacarosa ejerce un efecto deshidratante sobre los polímeros, lo que favorece las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba y se crea una estructura tridimensional que rodea las moléculas de sacarosa altamente hidratadas, a este mecanismo de gelificación se conoce como "mecanismo ácido-azúcar" (Jarvis 1992). En general, las pecinas más metoxiladas generan geles más rígidos y sólidos que las de menor esterificación.

## **2.9 Usos de las pectinas en la agroindustria**

Las pectinas tienen gran número de aplicaciones en diversas áreas tales como en la farmacéutica, cosmética o industria de los alimentos (Charley 1995). Actualmente se encuentra como ingrediente de innumerables productos alimenticios considerados "funcionales" (Ralet *et al.*, 2005), utilizándose como aditivo alimentario con una imagen saludable que contrasta con los riesgos del

empleo de diversos aditivos. Las pectinas son reconocidas por sus propiedades gelificantes, espesantes, emulsionantes y estabilizantes por lo que son ampliamente utilizadas para prevenir el uso de hidrocoloides costosos, lo cual contribuye a la conservación de la imagen natural del producto, ya que el consumidor asocia a las pectinas con frutas o vegetales “saludables”.

Entre otras aplicaciones, se utilizan en la elaboración de mermeladas, jaleas, ates, néctares, jugos, bebidas y postres lácteos, helados, confituras, medios de cultivo microbiológicos, alimentación animal, cosméticos, algunos fármacos, aditivo en compositos de la industria acerera, conservación del suelo, odontología, etc. (Herbstreith y Fox, 2003). Sin embargo, tales aplicaciones dependen de las propiedades fisicoquímicas, biológicas y reológicas de los polisacáridos pécticos (Voragen *et al.*, 2001). Las pectinas son fibra soluble que puede contribuir para mejorar el sistema digestivo e inducir la limpieza del colon. Debido a su capacidad de retener agua y formar geles, son utilizadas como agentes anti diarreicos ya que retrasan el vaciado gástrico y el tránsito por el intestino delgado modulando así la motilidad gastrointestinal. Al ser parte importante de la fibra de frutas y vegetales, inducen la sensación de saciedad, por lo que son utilizadas para el control de peso, además de ser empleadas para eliminar metales tóxicos del cuerpo. Su consumo puede disminuir los niveles de colesterol (total y LDL) y glucosa en la sangre (Rolin *et al.*, 1998).

Las pectinas son polisacáridos complejos cuya hidrólisis la llevan a cabo las bacterias intestinales, el ácido butírico formado durante la fermentación puede inhibir la formación de tumores, que se ve potenciada por los bajos pH que resultan de la fermentación de la fibra en el colon, por lo que también son consideradas como agente anti cancerígeno (Hughes *et al.*, 1980). Adicionalmente, el consumo de pectinas conduce a reducir la secreción de ácidos biliares en el intestino donde se forman sustancias cancerígenas (Paulsen y Barsett 2005; American Dietetic Association 2008) e inmunoestimulantes del sistema digestivo.

## **2.10 Antecedentes al presente trabajo**

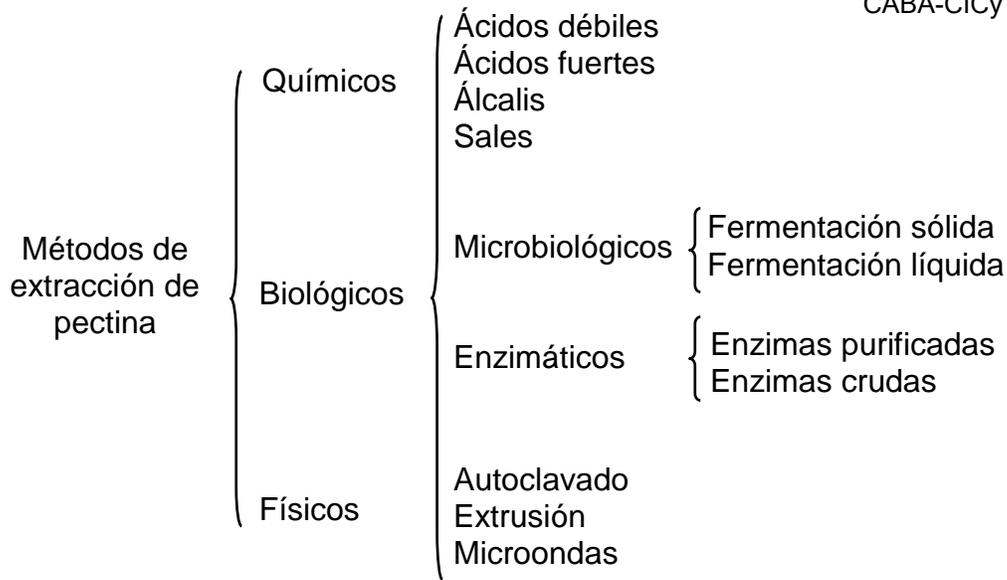
En el mercado existen diversas calidades de pectinas que se usan principalmente por su capacidad de gelificación en la elaboración de mermeladas y otros productos. Estos polímeros se extraen generalmente del bagazo residual de la producción del jugo de manzana, o a partir de las cáscaras de los cítricos, aunque su calidad y cantidad dependen directamente de las condiciones del material del que son extraídas ya que a pesar de que las pectinas están presentes en muchos vegetales, no cualquiera es fuente de su producción industrial (Navarro y Navarro 1985), así como de las condiciones de extracción. Comúnmente, las pectinas son extraídas por métodos químicos encontrándose modificaciones en la estructura dependiendo de la aplicación a la que estarán dirigidas (Contreras-Esquivel 2003). Durante las distintas etapas de su obtención se pueden inducir muchos cambios químicos catalizados por el ácido, la temperatura o las enzimas naturales; principalmente ocurre la hidrólisis de los enlaces éster metoxílico (desmetoxilación) y glucosídico (depolimerización), que traen consigo una reducción de la calidad, puesto que las pectinas se cotizan más cuando presenten menos degradaciones estructurales.

El proceso de extracción consiste en separar uno o más componentes de una mezcla que se pone en contacto con otra fase, en la que entran ambas en un contacto íntimo y el soluto o los solutos se difunden de una fase líquida a otra, lo que permite la separación de los componentes originales del sólido. Otro nombre empleado en el proceso de extracción es el de percolación, en el que, la extracción se hace con un disolvente caliente o a su punto de ebullición. La extracción sólido-líquido puede ser una operación a régimen permanente o intermitente, de acuerdo a los volúmenes que se manejen. La velocidad de difusión del soluto a través del sólido y la del disolvente hasta la superficie del sólido suele ser la resistencia que controla el proceso global y depende de diversos factores tales como la estructura inerte porosa, sustancias biológicas o naturales debido a la presencia de células y la resistencia a la transferencia de

masa del soluto desde la superficie sólida hasta el disolvente general, que suele ser bastante pequeña en comparación con la resistencia a la difusión dentro del propio sólido.

Durante la extracción de pectinas, se presenta el mecanismo de difusión o transferencia de masa, en el que se transfiere un componente sólido de una fase a otra fase diferente. La extracción se lleva a cabo de un medio sólido (compuesto por diversas sustancias) a un líquido que disuelve (interactúa químicamente) y extrae el soluto contenido en el sólido (polisacáridos pécticos). Los residuos en esta operación son los sobrenadantes o sólidos exhaustos en el fondo del extractor (o bien en el equipo en el que se lleve a cabo el proceso) y el residuo líquido que contiene sólidos extraídos o extracto (en este caso, polisacáridos pécticos) y disolventes.

Algunos investigadores han reportado la extracción de pectina a partir de diversos métodos, entre los que destaca la utilización de ácido diluido u oxalato de amonio, hexametáfosfato o imidazol (Rolin *et al.*, 1998) y otros agentes quelantes tales como ácido etilendiamino tetracético (EDTA) (Habibi *et al.*, 2004a) o ácido trans-1,2-diaminociclohexano-N,N',N'-tetracético (CDTA) que le otorgan al polisacárido ciertas características de solubilidad. Actualmente se recomienda clasificar a las pectinas de acuerdo a sus características estructurales sobre la base de la cadena principal (HG, RG I o RG II) o bien basado en las cadenas laterales (arabinogalactanos), las cuales están en función de los procedimientos de extracción empleados. En la Figura 2.10-1 se resumen los distintos procedimientos de extracción de pectina (Contreras-Esquivel 2003). De acuerdo a su grado de solubilidad, las pectinas se clasifican en: pectina soluble en agua (extraída con agua o soluciones salinas diluidas), pectina soluble en agentes quelantes (EDTA) y protopectina (soluble por calor en presencia de ácido o álcali) (Van Buren, 1991; citado por Contreras-Esquivel 2003), la clasificación de las pectinas de acuerdo a su solubilidad fue aceptada por la *American Chemical Society* en 1994.



**Figura 2.10-1** Clasificación de los métodos empleados en la extracción de pectinas (Contreras-Esquivel, 2003).

Diversos autores han contribuido a la caracterización de los polisacáridos de las cáscara de tuna (*Opuntia spp.*) (Majdoub *et al.*, 2001; Habibi *et al.*, 2004; y Lozada-Carbajal 2007), considerando la extracción de polisacáridos pécticos como posibilidad para el aprovechamiento de este subproducto agrícola. Medina-Torres *et al.* (2000) evaluaron las propiedades reológicas de soluciones acuosas del mucilago aislado de especies de *Opuntia ficus-indica*, para su potencial uso como fibra dietética o agente espesante en alimentos.

En el Cuadro 2.10-1 se resumen algunos estudios de extracción de mucílagos y/o pectinas de cactáceas en el que se puede observar que las extracciones realizadas con agentes quelantes producen polímeros con concentraciones superiores al 50% de ácidos urónicos, mientras que las extracciones acuosas a temperatura ambiente generan extractos con bajo contenido en ácidos urónicos (9-14%) y ricos en azúcares neutros, entre los que se encuentran principalmente arabinosa y galactosa.

**Cuadro 2.10-1. Resumen de estudios realizados de extracción de mucilagos y/o polisacáridos pécticos en nopal y tuna.**

Fuente de Polisacárido	Método de Extracción Velocidad de agitación (rpm) Tiempo de extracción (h) Rendimiento (% p/p)	Masa molecular del polisacárido Da (g/gmol)	Ácidos urónicos	Caracterización Química y DE (% p/p)						Propiedades Reológicas	Resultados Relevantes	Referencia
				Ram	Ara	Gal	Glu	Xil	DE (%)			
Tuna	Extracción ácida (HCl pH= 2.0, 80°C) NR 2 0.12 Base seca	NR	64.3	-	9.0	34.5	3.9	3.32	10	NR	Los polímeros de la cáscara de tuna tienen alto contenido de ácido galacturónico (64%).	Forni <i>et al.</i> , 1994
Nopal	Extracción con ácido tricloroacético (5%) 48 10 000 0.07	3.4x10 <sup>6</sup>	-	-	-	-	-	-	-	Los mucilagos presentan comportamiento pseudoplástico en solución. El comportamiento de los módulos dinámicos (G', G'') describen espectros característicos de sistemas de redes entrecruzadas sin evidencia de formación de un gel.	Se obtienen polisacáridos no gelificantes, "mucilagos" con altas masas molares y propiedades reológicas al flujo tipo pseudoplásticas.	Cárdenas <i>et al.</i> , 1997
Nopal	Extracción con acetona, relación v/v=1:2 (pulpa de nopal: acetona) NR NR NR	2.3x10 <sup>4</sup>	6.38	7.02	44.04	20.43	-	22.13	-	La viscosidad de soluciones de mucilago de nopal al 10% fue similar a la que presenta la goma xantana en soluciones acuosas al 3%.  La viscosidad fue afectada por la fuerza iónica y pH del medio, disminuyendo al incrementar la fuerza iónica. El incremento en la concentración de mucilago (5-10%) generó comportamientos típicos de geles débiles.	El mucilago de nopal presenta en solución un comportamiento no Newtoniano, reofludificante a la cizalla.  La viscosidad incrementa con el pH y desciende con el aumento de la fuerza iónica. Las propiedades viscoelásticas mostraron comportamiento de soluciones macromoleculares y geles débiles cuando se incrementa la concentración de polímero en el intervalo de 3 al 10%.	Medina-Torres <i>et al.</i> , 2000
Nopal	Acuosa a temperatura ambiente, recuperación mediante ultrafiltración (MW 100 kDa) NR	6.12x10 <sup>6</sup>	10.2	46	15	11	1.9	9.1	8.8	NR	Los polisacáridos del nopal y la tuna presentan un contenido de azúcares típico de las pectinas con alto y bajo grado de esterificación de residuos galacturónicos.	
Piel de nopal	3.7% base seca Acuosa a temperatura ambiente, recuperación mediante ultrafiltración (MW 100 kDa) NR 48 0.65% base seca	3.53x10 <sup>6</sup>	46.3	53.7	0	0	0	0	83.0		Los polisacáridos de la cáscara de tuna contienen una sola fracción de masa molecular (3x10 <sup>5</sup> g/gmol).	

<b>Tuna*</b>	Acuosa a temperatura ambiente, recuperación mediante ultrafiltración (MW 100 kDa) NR 48 7.3% base seca	2.25x10 <sup>5</sup>	51.8	48.2	0	0	0	0	32.0		Los polisacáridos extraídos de la tuna en un rango de pH 4-6 no presentan sensibilidad con los iones de calcio.	Majdoub <i>et al.</i> , 2001 <sup>a</sup>
<b>Tuna**</b>	Extracción Ácida/alcohólica (pH=2.0, 80°C) NR 2 7.0% base seca	2.40x10 <sup>5</sup>	53.1	46.9	0	0	0	0	27.0			
<b>Piel de nopal</b>	Acuosa a temperatura ambiente, recuperación mediante ultrafiltración (MW 100 kDa) NR 24 0.6	13x10 <sup>6</sup>	9.6	6.9	33.1	20.3	1.0	18.7	-	El polisacárido extraído de la piel del nopal reveló una buena estabilidad de viscosidad de las soluciones tras la adición de sales. Esta propiedad se puede observar como consecuencia de la baja densidad de carga de la cadena del polímero. Una fracción de alto peso molecular en el polisacárido no proporciona altas viscosidades por lo que tiene un bajo potencial para ser utilizado como aditivo en la industria farmacéutica o aplicaciones en cosméticos y alimentos.	La baja densidad de carga de la cadena del polímero presentó cierta estabilidad en presencia de cationes mono y divalentes.	Majdoub <i>et al.</i> , 2001 <sup>b</sup>
<b>Tuna</b>	Acuosa 20°C 4.1 base seca 2 NR	NR	14.20	4.20	32.70	23.50	1.50	4.50	NR	NR	La estructura y composición del polisacárido extraído corresponde a un arabinogalactano muy ramificado.	Habbibi <i>et al.</i> , 2004 <sup>b</sup>
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 0.5%) en solución acuosa (60°C) peso seco (Pectina soluble en agua) NR 4	NR	52.00	1.40	14.20	10.80	3.30	0.90	NR	NR	Las fracciones obtenidas de la extracción (solubles en agua y EDTA) consisten en unidades repetitivas de ramnosa y galactosa.	
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 0.5%) en solución acuosa (60°C) peso seco (Pectina soluble en agentes quelantes) NR 4	NR	64.50	3.70	17.20	4.00	-	0.90	NR	NR	La cadena presenta gran cantidad de ramificaciones de arabinanos y galactanos.	Habbibi <i>et al.</i> , 2004 <sup>a</sup>
<b>Tuna</b>	Extracción fraccionada: 3 etapas, la última de éstas (HCl 0.05M, 80°C, 2h) fue la estudiada NR NR Rendimiento 8.7 base seca	NR	50.70	12.50	1.20	10.80	2.90	0.80	NR	NR	Los resultados de metilación y NMR definen una estructura de los polisacáridos pécticos extraídos bajo condiciones alcalinas, conformada por ácido galacturónico y ramnosa en el esqueleto principal con cadenas laterales de arabinosa.	Habbibi <i>et al.</i> , 2005

<b>Tuna</b>	Extracción acuosa NR 48 3.8	NR	23.40	18.27	10.75	44.08	-	26.88	NR	NR	El mucilago de <i>O. ficus indica</i> presenta una muestra compleja de polisacáridos de los cuales menos del 50% corresponden a polisacáridos tipo pectina.	Matsuhiro <i>et al.</i> , 2005	
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 0.25%) en solución acuosa (60°C, 70°C, 80°C) peso húmedo 550 60°C 70°C 80°C 0.0019±0.001 0.020±0.009 0.018±0.005	NR	-	-	-	-	-	-	-	60°C 70°C 80°C K (Pas <sup>n</sup> ) n (-) 0.192±0.015 0.051±0.005 0.099±0.035 0.606±0.016 0.769±0.013 0.729±0.051	Las pectinas obtenidas generan soluciones viscosificantes (altos índices de consistencia) y mayor pseudoplasticidad en comparación con la pectina comercial utilizada (CP Kelco pectin).		
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 0.5%) en solución acuosa (60°C, 70°C, 80°C) peso húmedo 550 60°C 70°C 80°C 0.028±0.002 0.032±0.002 0.042±0.003	NR	-	-	-	-	-	-	-	60°C 70°C 80°C K (Pas <sup>n</sup> ) n (-) 0.145±0.015 0.050±0.067 0.017±0.001 0.700±0.0155 0.786±0.029 0.873±0.0007	La pectina extraída evidencia la capacidad gelificante en presencia de calcio (2% p/p, 5 mM CaCl <sub>2</sub> ) con espectros típicos de geles estables con el tiempo.	Lozada-Carbajal 2007	
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 1.0%) en solución acuosa (60°C, 70°C, 80°C) peso húmedo 550 60°C 70°C 80°C 0.041±0.003 0.076±0.016 0.087±0.018	NR	-	-	-	-	-	-	-	60°C 70°C 80°C K (Pas <sup>n</sup> ) n (-) 0.029±0.0002 0.011±0.0001 0.020±0.001 0.831±0.0021 0.937±0.0035 0.872 ±0.005			
<b>Tuna</b>	Extracción con agente quelante (EDTA 1.5%) en solución acuosa (60°C, 70°C, 80°C) peso húmedo 550 60°C 70°C 80°C 0.190±0.021 0.180±0.005 0.0190±0.018	NR	-	-	-	-	-	-	-	60°C 70°C 80°C K (Pas <sup>n</sup> ) n (-) 0.005±0.0001 0.029±0.0032 0.009±0.001 1001.0±0.004 0.853±0.0124 0.942±0.0013			
<b>Tuna</b>	Acuosa con hexametrafosfato de sodio 1.0% NR 10 min. 121°C 39	NR	-	-	-	-	-	-	-	NR	Material rico en arabino-galactanos	Terrazas 2007	
<b>Tuna</b>	Acuosa con hexametrafosfato de sodio 1.0% NR 10 min. 121°C 38.8	NR	-	-	-	-	-	-	-	NR	Los polisacáridos extraídos de la tuna y el nopal son considerados sustancias pécticas de bajo metoxilo con rasgos estructurales de arabinogalactano	Contreras-Esquivel, <i>et al.</i> , 2007	
<b>Nopal</b>	Acuosa con hexametrafosfato de sodio 1.0% NR 10 min. 121°C 46	NR	-	-	-	-	-	-	-	NR			
Ram: ramnosa			Glu: glucosa							NR: no reportado			
Ara: arabinosa			Xil: Xilosa										
Gal: galactosa			DE= grado de esterificación										

En general, el perfil de la composición total de la pectina de tuna coincide con la pectina obtenida de la cáscara de limón (Ros *et al.*, 1996) y la remolacha azucarera (Oosterveld *et al.*, 2000). Sin embargo, existen diferencias estructurales y reológicas entre las sustancias pécticas del nopal y de la cáscara de tuna. Los métodos de extracción propuestos por diversos investigadores separan las pectinas de los mucilagos, comprobando las diferencias químicas de estas dos fracciones macromoleculares, mientras que el mucilago no forma un gel tras la adición de calcio, las pectinas se muestran sensibles a los cationes divalentes. En 1980, Karawya *et al.*, establecieron la diferencia entre un mucilago y una pectina basándose específicamente en la determinación de grupos metoxilo, el contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico.

## Capítulo 3

### HIPOTESIS, OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

#### 3.1 Hipótesis

- Es posible obtener polisacáridos solubles en agua con características químicas de pectinas a partir de la cáscara de tuna.
- Las soluciones acuosas de estos polisacáridos presentarán comportamientos reológicos de interés para la agroindustria.

#### 3.2 Objetivos

##### 3.2.1 Objetivo general

Determinar la composición química y el comportamiento reológico del polisacárido extraído de la cáscara de tuna para proponerlo como aditivo en la industria agroalimentaria.

##### 3.2.2 Objetivos específicos

En polisacáridos tipo pectina extraídos de la cáscara de tuna:

- Determinar la composición de azúcares neutros, ácido galacturónico y estimar el grado de esterificación a través de técnicas de cromatografía de líquidos y espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier a fin de establecer los rasgos químicos esenciales de este polisacárido
- Determinar la distribución de masas moleculares de polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna a través de cromatografía de líquidos.
- Evaluar las propiedades reológicas de soluciones acuosas del polisacárido péctico de tuna, usando reometría de cizalla estacionaria, con la finalidad de establecer comparaciones de parámetros reológicos con pectinas comerciales.
-

### **3.3 Justificación**

México es un país con una variedad importante de frutas, lamentablemente muchas de éstas se pierden en la cosecha o no se aprovechan adecuadamente. En México el nopal y la tuna han sido muy apreciados por sus cualidades alimenticias y medicinales, actualmente se cultiva en todo el país aunque la mayor producción del país se registra sólo en 9 estados dentro de los cuales se encuentra el estado de Hidalgo. Aún cuando México ocupa el primer lugar como productor de tuna a nivel mundial y cuenta con técnicos capacitados para un adecuado aprovechamiento de esta fruta, no ha logrado mejorar su presencia en los mercados internacionales.

El consumo de tuna en el país es principalmente como fruta fresca y en menor cantidad en la elaboración de melcocha, miel, jalea y bebidas fermentadas. En reportes recientes se estima que más del 60% de la fruta se pierde en el campo (SIACON 2004) debido a la saturación del mercado en los meses de producción, disminuyendo los precios del fruto y haciendo incosteable su cosecha. Aunado a esto, no se han desarrollado tecnologías de conservación y/o aprovechamiento del fruto a nivel industrial, por lo que es importante contar con tecnologías viables para el aprovechamiento integral y eficiente de este fruto mexicano.

Recientes estudios químicos y fisicoquímicos de polisacáridos extraídos de la cáscara de tuna han mostrado características similares a las pectinas. Sin embargo, existen pocos reportes en la literatura acerca de la estructura y composición química de estas pectinas y cómo estas características químicas determinan el comportamiento reológico de estos polímeros en solución acuosa.

El presente trabajo de investigación busca desarrollar tecnologías de extracción de polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna, así como caracterizar la composición química y el comportamiento reológico de estos biopolímeros con uso potencial en la agroindustria (i.e. alimentos, cosméticos, fármacos, entre otros). Se espera contribuir al desarrollo de tecnologías limpias para la obtención de aditivos inocuos de fuentes naturales de nuestro país, lo cual conlleve a una revaloración del cultivo de la tuna en Hidalgo y en México.

## Capítulo 4

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1 Espécimen

Se utilizó la variedad Alfajayucan de tunas cultivadas en la región de San Martín de las Pirámides, Estado de México. Las tunas utilizadas se obtuvieron en el periodo Julio-Diciembre de 2007, las cuales fueron seleccionadas y agrupadas de acuerdo al índice de maduración en E1 (estado de maduración inmaduro), E2 (estado de maduración semi-maduro), E3 (estado de maduración comercial), E4 (maduración alta). Las cáscaras utilizadas en este estudio fueron tomadas del grupo de tunas con índice de maduración E3. A los frutos se les extrajo la pulpa tras realizar dos cortes transversales hacia los extremos del fruto y un tercer corte longitudinal en la parte media del mismo. La cáscara de tuna se conservó en un congelador (marca TOR-REY modelo CH15) a una temperatura de  $-16^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior utilización en los experimentos de extracción del polisacárido tipo pectina. La cáscara de la tuna se trituroó en un procesador de alimentos (Oster, modelo 3212-13) para obtener un tamaño de partícula que permitiera mayor área de contacto sólido-disolvente, mejorando el proceso de extracción de polisacáridos (Figura 4.1-1).



**Figura 4.1-1** Cáscara de tuna triturada

## **4.2 Extracción de polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna en tanque agitado**

Con la finalidad de inactivar enzimas endógenas que pudieran afectar la estructura de la cadena del polisacárido, se realizó un escalde o blanqueamiento colocando la cáscara de tuna previamente triturada en un lienzo de tela organza sobre un baño de agua a ebullición por espacio de 20 min. La extracción de los polisacáridos no celulósicos presentes en la cáscara de tuna, se efectuó en medio acuoso, mediante procesos discontinuos a nivel tanque agitado de 5 L con un volumen de operación de 3 L.

Las extracciones se realizaron manejando una relación cáscara húmeda/medio acuoso de 30 g/100 mL, utilizándose agua desionizada durante todo el proceso. Se llevó a cabo un proceso de extracción fraccionada, siguiendo la metodología de Lozada-Carbajal (2007) con la finalidad de eliminar mucilagos (etapa 1), polisacáridos solubles en agua (etapa 2) y obtener polisacáridos pécticos solubles en soluciones acuosas de agentes quelantes (etapa 3). La primera etapa de extracción se realizó a temperatura ambiente (25 °C) durante 2 horas con 550 rpm de agitación y sin control de pH. Concluido el tiempo de esta etapa, las cáscaras en suspensión se separaron desechando el extracto, estas fueron re-suspendidas en agua desionizada a 60 °C durante 2 horas, 550 rpm y sin control de pH, realizando así la segunda etapa de la extracción eliminado en ésta polisacáridos solubles en agua caliente. En la tercera etapa, las cáscaras se suspendieron en una solución acuosa de la sal disódica del ácido etilendinitrilo tetracético (EDTA) con una concentración al 1.0 % (p/v) a 70 °C durante 2 horas a 550 rpm y un pH=4.01 (Potenciómetro Thermo Orion modelo 420 A plus). El residuo agotado se separó de la solución acuosa filtrando a través de un lienzo de organza, los polisacáridos extraídos se recuperaron del medio de extracción utilizando etanol frío al 96 % v/v (grado industrial) en una relación 1:1.5 extracto filtrado-etanol (figura 4.2-1). El polisacárido precipitado se separó de la solución acuosa filtrando ésta con tela de organza doblada (para evitar pérdidas del polisacárido extraído), obteniendo un polímero de apariencia esponjosa.

a)



b)



**Figura 4.2-1** a) Polisacárido precipitado con etanol. b) Polisacárido recuperado utilizando tela organza.

### 4.3 Purificación del polisacárido extraído

El polisacárido obtenido se re-suspendió en agua desionizada para lavarlo eliminando sales provenientes de la extracción, se precipitó con etanol frío al 96 % v/v, utilizando la misma proporción extracto filtrado-etanol para obtener la estructura esponjosa característica del polisacárido extraído. A éste se le realizaron 3 lavados con 200 mL de etanol (para cada lavado) utilizando un filtro con vidrio poroso conectado a una bomba de vacío para facilitar el proceso de lavado (figura 4.3-1).

a)



b)



**Figura 4.3-1** a) Lavado del polisacárido con etanol utilizando vacío. b) Recuperación del polisacárido lavado.

El polisacárido obtenido se secó en una estufa a 45°C durante 24 horas. Una vez seco, se trituro manualmente en un mortero hasta tener un polvo fino (figura 4.3-2).



**Figura 4.3-2** Polisacárido seco triturado obtenido de la extracción de la cáscara de tuna.

#### **4.4 Determinación del rendimiento del polisacárido extraído**

El rendimiento (R) de las extracciones se calculó utilizando la ecuación 1.

$$R = \frac{\text{sólidos secos extraídos y precipitados con etanol (g)}}{\text{sólidos secos totales de la cáscara de tuna (g)}} \quad (1)$$

#### **4.5 Caracterización fisicoquímica y reológica del polisacárido extraído de la cáscara de tuna**

##### **4.5.1 Caracterización fisicoquímica**

El polisacárido extraído de la cáscara de tuna se sometió a los siguientes análisis:

### a) Determinación de humedad

Se colocaron 0.1 g de muestra de pectina de tuna en cápsulas de aluminio (a peso constante) en una estufa de secado (Shell Lab, modelo 1380FX) a 100°C 24 horas. El cálculo para conocer el porcentaje de humedad se realizó utilizando la ecuación 2. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

$$\% \text{Humedad}(m / m) = \frac{(C_m - C_{ms})}{m} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

$C_m$ = masa de la cápsula con muestra húmeda (g)

$C_{ms}$ = masa de la cápsula con muestra seca (g)

$m$ = masa de la muestra (g)

### b) Determinación de cenizas

Se colocaron 0.1 g de muestra de pectina de tuna en crisoles de porcelana (a peso constante). La muestra fue calcinada hasta obtener cenizas claras y colocadas posteriormente en una mufla (Lundberg/Blue no. serie BH51700) a 550° C durante 5 horas. Al término, la muestra se enfrió en un desecador y posteriormente se pesó. El cálculo para determinar el contenido de cenizas se realizó utilizando la ecuación 3. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

$$\% \text{Cenizas}(m / m) = \frac{(C_c - C)}{m} \times 100 \quad (3)$$

Donde:

$C_c$ = masa del crisol con cenizas (g)

$C$ = masa del crisol seco (g)

$m$ = masa de la muestra (g)

**c) Determinación de proteína**

Se determinó mediante el método Kjendahl (AOAC, 1998). Se realizaron determinaciones en la cáscara de tuna y en la pectina extraída. En cada caso se usaron 0.2 g de muestra. El porcentaje de nitrógeno total se calculó usando la ecuación 4 y se usó un factor de 6.25 para convertir nitrógeno total a contenido de proteína. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

$$N = \frac{(V - V_0) (N_{HCl}) (meq)}{M_m} \quad (4)$$

Donde:

N= nitrógeno total (g<sub>nitrógeno</sub>/g<sub>muestra</sub>)

V= volumen de HCl gastados en el problema (mL)

V<sub>0</sub>= volumen de HCl gastados en el blanco (mL)

N<sub>HCl</sub>= normalidad de HCl (miliequivalentes/mL)

meq= peso equivalente del nitrógeno (g/miliequivalentes) = 0.014

M<sub>m</sub>= masa de la muestra (g)

**d) Determinación de contenido de minerales**

El polisacárido péctico de tuna fue analizado en contenido de calcio, magnesio, sodio y potasio mediante absorción atómica a través del servicio externo que proporciona la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química-UNAM. La determinación se llevó a cabo siguiendo el procedimiento técnico PT-USAI-FQ-AA-001, en un equipo Varian SpectrAA 220 con SIPS (Sample Introduction Pump System). Previo a la determinación, la muestra fue digerida en un horno de microondas marca CEM, modelo MSD 2000, empleando HNO<sub>3</sub>.

### **e) Determinación de masa molecular promedio**

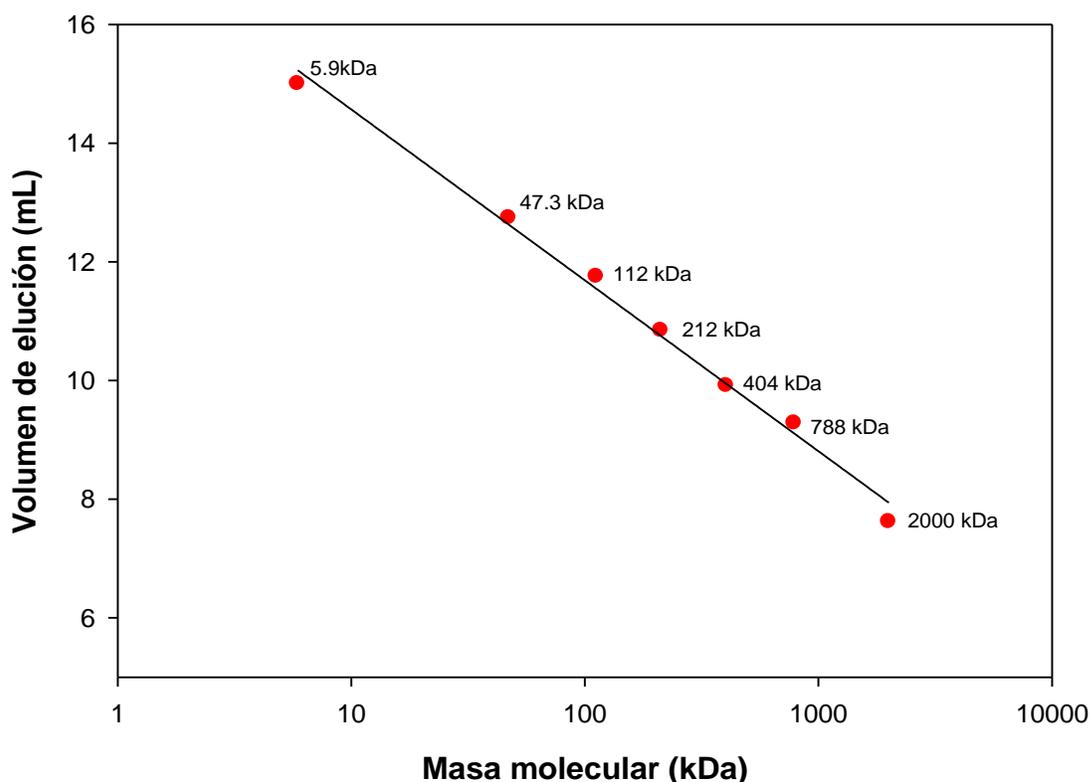
La cromatografía es una técnica que permite la separación de moléculas diferentes presentes en una misma muestra, está basada en la velocidad de desplazamiento diferencial de las mismas que se establece al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gaseosa) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria, la cual puede ser sólida o líquida, siendo la cromatografía de exclusión molecular (a menudo también llamada filtración en gel o de tamiz molecular) la comúnmente usada para determinar distribución de masa moleculares en polímeros. La distribución de masas moleculares de las posibles fracciones de biopolímeros presentes en el polisacárido péctico de tuna se realizó por cromatografía de líquidos de alta resolución, acoplada a un detector de índice de refracción (HPLC-IR), en la Central Analítica del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) Unidad Zacatenco.

Para este estudio, se pesó un gramo de polímero seco extraído de la cáscara de tuna, al cual se le adicionaron 20 mL de isopropanol. La mezcla se sonicó durante 20 min a 24°C y se centrifugó. La fase líquida se decantó y se evaporó el disolvente de la fase sólida. De la muestra seca se pesaron 10 mg, los cuales se aforaron a 10 mL con agua destilada. La muestra se filtró usando una membrana de 0.22  $\mu\text{m}$  y se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  de ésta en el cromatógrafo. Para el análisis cromatográfico se utilizaron las siguientes condiciones:

**Cuadro 4.5-1** Condiciones cromatográficas para la determinación de masas moleculares de pectina

Columna	TSK gel 5000PWXL 7.8 mm DI x 30cm
Fase móvil	H <sub>2</sub> O
Temperatura de la columna	70°C
Flujo	0.3 mL/min

Se preparó una curva de calibración (figura 4.5-1) con estándares de diferentes masas moleculares, con las condiciones establecidas en el Cuadro 4.5-1.



**Figura 4.5-1** Curva de calibración para la determinación de masas moleculares del polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna mediante cromatografía líquida.

#### f) Determinación de azúcares neutros

Los polisacáridos extraídos de la cáscara de tuna se sometieron a una hidrólisis ácida de acuerdo al método de Albersheim *et al.*, (1983). El hidrolizado se secó y se aforó a 10 mL con agua destilada. La muestra se analizó por HPLC-IR utilizando los siguientes parámetros:

**Cuadro 4.5-2** Condiciones cromatográficas para la determinación de azúcares neutros presentes en el polisacárido péctico de cáscara de tuna.

Columna	SugarSC1011, 8mm Di x 300mm
Fase móvil	H <sub>2</sub> O
Temperatura de la columna	60°C
Flujo	0.5 mL/min

Se prepararon soluciones de estándares de azúcar (1 mg/mL) y se analizaron bajo las condiciones establecidas en el Cuadro 4.5-2.

### **g) Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier**

Los análisis de infrarrojo realizados en el polisacárido péctico de cáscara de tuna se realizaron con la finalidad de conocer los grupos funcionales presentes en la molécula, establecer la similitud del polisacárido con pectinas cítricas y estimar el grado de metoxilación del polisacárido.

Se llevaron a cabo en un equipo de Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR Spretum GX, Perkin Elmer) equipado con un accesorio reflectante total (ATR, Sentir Technologies) en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo Coahuila México. Los espectros fueron registrados por 35 escaneos a una resolución de  $4.0\text{ cm}^{-1}$ . La lectura espectroscópica se realizó en una muestra de polisacárido péctico pulverizada, a una resolución de  $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ .

Los espectros fueron corregidos en su línea base y normalizados tangencialmente (absorbancia=1) con el programa Spectrum, Molecular Spectroscopy (Versión 3.02.01, PerkinElmer, Inc. USA). Para el análisis de FTIR se tomaron  $2\ 000\ \mu\text{L}$  de muestra de polisacárido péctico de tuna al 0.5% y se colocaron en tubos cónicos para centrifuga de 50 mL a los que se les adicionó  $50\ \mu\text{L}$  de pectinmetilesterasa Novoshape (1:50). Se preparó un tubo "control" con  $2\ 000\ \mu\text{L}$  de muestra de polisacárido péctico de tuna con  $50\ \mu\text{L}$  de buffer  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  (pH 5.5, 50 mM).

Las muestras fueron incubadas por espacio de 8 horas a  $37^\circ\text{C}$ . Al término del tiempo de incubación, se realizaron tres lavados con etanol (96 °GL), centrifugando en cada lavado y estableciendo 2 horas de reposo entre lavado y lavado. Finalmente, las muestras de polisacárido péctico de tuna se lavaron y secaron con acetona para su posterior caracterización por FTIR.

## **h) Análisis Termogravimétrico (TGA) del polisacárido péctico de cáscara de tuna**

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica que informa sobre la evolución de la pérdida de masa de una muestra en función de la temperatura en una atmosfera determinada, permitiendo así conocer la estabilidad térmica de los materiales cuando son expuestos a un intervalo amplio de temperatura. El estudio realizado a la muestra de polisacárido péctico de cáscara de tuna se efectuó con la finalidad de conocer su estabilidad térmica para posibles aplicaciones no alimentarias, como por ejemplo en el diseño de mezclas con polímeros sintéticos para mejorar las propiedades mecánicas, reológicas y de biodegradabilidad de estos nuevos materiales.

El TGA se llevó a cabo utilizando un analizador termogravimétrico conectado a una computadora (Shimadzu TGA-50) en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo Coahuila México. Antes de colocar las muestras en polvo, el instrumento fue calibrado con estándares de aluminio y zinc. Las muestras de polisacárido péctico de tuna fueron analizadas con un índice lineal de calentamiento a 2.5 °C/min usando 7-10 mg de cada muestra en un contenedor de aluminio. El calentamiento de la muestra se realizó en el intervalo de 20 a 900 °C.

### **4.5.2 Caracterización reológica**

Las pruebas reológicas se realizaron en un reómetro de esfuerzo controlado AR-2000 (TA Instruments) en el Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Se realizaron pruebas de cizalla estacionaria con la finalidad de determinar parámetros reológicos del comportamiento al flujo del polisacárido péctico de tuna en solución. Para estas determinaciones se utilizó la geometría de cilindros concéntricos de doble pared (espacio anular interno: 0.19 mm, espacio anular externo: 0.415 mm y

longitud del cilindro 59.5 mm). El polisacárido extraído se dispersó en agua en concentraciones del 0.5%, 1% y 2% p/p. El polímero se mantuvo en agitación continua en una parrilla con agitación magnética durante 4 horas, una vez disperso, se colocaron 6800  $\mu\text{L}$  de cada solución sobre los cilindros de la geometría del equipo. Las muestras fueron cizalladas en el intervalo de 0.1 a 500  $\text{s}^{-1}$ , con un tiempo de estabilidad del flujo en el equipo de 30 s en cada valor de velocidad de deformación. Al término del periodo de cizallamiento, se realizó otra curva de flujo con un intervalo de velocidad de corte de 500 a 0.1  $\text{s}^{-1}$ , con el mismo tiempo de estabilización de flujo en cada valor de velocidad de corte para verificar si existía dependencia de las propiedades reológicas con el tiempo (tixotropía). Todas las determinaciones se realizaron a 25 °C por duplicado.

Las curvas de flujo de cada muestra se determinaron a partir de los datos esfuerzo-velocidad de corte, provenientes de las señales de torca estables. Los datos experimentales se ajustaron al modelo de Ostwald de Waele (ecuación 5), obteniéndose los valores de K (índice de consistencia) y n (índice de flujo), empleando un algoritmo de regresión no lineal del programa SigmaPlot® 10.0.

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (5)$$

Donde:

$\sigma$ = esfuerzo (Pa)

$\dot{\gamma}$  = Velocidad de cizalla ( $\text{s}^{-1}$ )

K= índice de consistencia ( $\text{Pa s}^n$ )

n= índice de flujo (-)

## Capítulo 5

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 Rendimiento de extracción y análisis proximal

El rendimiento de extracción de polisacáridos pécticos de cáscara de tuna fue de  $9.8\% \pm 0.56$  cercano al reportado por Majdoub *et al.*, (2001) de 7% y 7.3% usando extracción ácido-alcohólica y acuosa, respectivamente; y cerca de la mitad del rendimiento reportado por Lozada-Carbajal (2007), el cual fue de 17% usando las mismas condiciones de extracción (i.e. 70°C, 1% de EDTA, 2 horas). La diferencia en el rendimiento con Lozada-Carbajal (2007) se debe a que en el presente estudio se adicionaron al proceso de recuperación una serie de lavados con agua desionizada y etanol para eliminar sales en el polisacárido extraído.

Los resultados de humedad y cenizas de los polisacáridos pécticos obtenidos se muestran en el Cuadro 5.1-1, en donde también se presentan los resultados de otros autores. Como se puede observar, el contenido de cenizas presentes en el polisacárido obtenido en este estudio fue menos del 50% del reportado por Lozada-Carbajal (2007), esta disminución en sales y las posibles pérdidas de polímero en los lavados realizados en el proceso de recuperación explican la disminución en el rendimiento del polisacárido extraído.

Por otra parte, el contenido en proteína presente en el polisacárido péctico es superior al encontrado en la cáscara del cual fue extraído debido a que ésta, además de pectina, contiene polisacáridos celulósicos, hemicelulósicos, lignina, proteínas estructurales y minerales, por lo que al realizar la recuperación y

purificación del polisacárido, es posible que se hayan eliminado carbohidratos y fracciones proteicas, además de minerales, lo cual da lugar a la diferencia en cenizas y proteínas con los polisacáridos pécticos analizados por Lozada-Carbajal (2007).

**Cuadro 5.1-1.** Análisis proximal de la composición química de la cáscara de tuna y de polisacáridos pécticos. Datos promedio  $\pm$  desviación estándar.

	Humedad (% p/p)	Cenizas (% p/p <sub>b.s.*</sub> )	Proteína (% p/p <sub>b.s.*</sub> )
Cáscara de tuna (Lozada-Carbajal 2006)	80.95 $\pm$ 0.38	11.50 $\pm$ 1.07	0.03 $\pm$ 0.003
Pectina de tuna (Lozada-Carbajal 2006)	3.42 $\pm$ 0.07	19.35 $\pm$ 0.93	0.11 $\pm$ 0.005
Pectina cítrica, 9% de metoxilación (Genu® Pectin LM-5CS, Kelco®)	-	-	0.027 $\pm$ 0.001
<b>Cáscara de tuna Presente trabajo</b>	<b>83.84 <math>\pm</math> 0.27</b>	<b>10.89 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.08 <math>\pm</math> 0.01</b>
<b>Polisacárido péctico de tuna. Presente trabajo</b>	<b>10.89 <math>\pm</math> 0.12</b>	<b>9.803 <math>\pm</math> 0.92</b>	<b>0.301 <math>\pm</math> 0.009</b>

\*b.s.: base seca

## 5.2 Determinación de masas moleculares de polisacárido péctico de cáscara de tuna

La masa molecular, es la característica química más importante en cualquier biopolímero, en el caso de la pectina se relaciona tanto con la viscosidad de sus dispersiones como con su poder gelificante. De acuerdo al análisis cromatográfico (Figura 5.2-1), los polisacáridos pécticos de tuna presentan una distribución amplia de masas moleculares, existen fracciones poliméricas de masa molecular de  $1.32 \times 10^6$  Da que representan el 30.57% del polímero y fracciones de muy baja masa molecular, 4200 Da, representando el 12.08%.

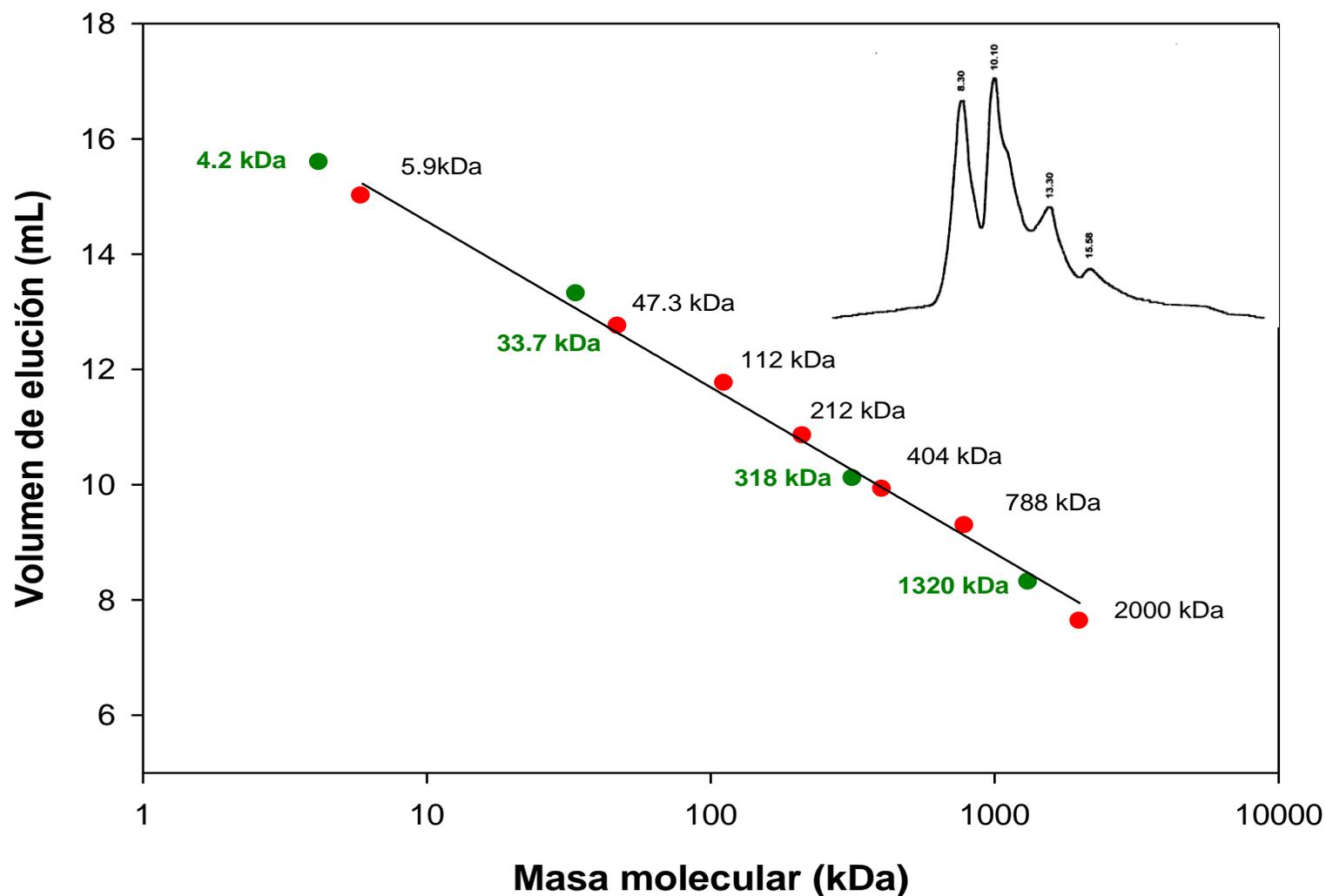
La distribución de masas moleculares en el polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna se muestra en el Cuadro 5.2-1, encontrando de acuerdo a los

resultados obtenidos, que los polisacáridos extraídos están constituidos en una tercera parte por macromoléculas de gran masa molar que presentan una magnitud similar a la de algunas pectinas cítricas, así como la de la goma xantana (Lapasin y Pricl, 1995). Pocos estudios de caracterización macromolecular se han llevado a cabo con pectinas de tuna, sólo se cuenta el estudio realizado por Majdoub *et al.*, (2001) quienes reportan masas molares de  $2.25 \times 10^5$  y  $2.40 \times 10^5$  Da de polisacáridos pécticos extraídos de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*) mediante extracción acuosa y ácido-alcohólica, respectivamente.

La diferencia en magnitud entre las masas molares de los polisacáridos pécticos obtenidos en el presente trabajo con relación a lo reportado previamente por Majdoub *et al.*,(2001) posiblemente se deba a las diferencias en los métodos de extracción manejados; en el presente estudio se empleó un agente quelante de calcio para extraer pectinas sensibles al calcio bajo condiciones ácidas débiles (pH=4.00), las cuales probablemente generaron menor degradación en la estructura de los polisacáridos pécticos de la cáscara de tuna, cuya distribución de masas se resume en el cuadro 5.2-1 y se presenta en la figura 5.2-1.

**Cuadro 5.2-1.** Distribución de las masas moleculares en el polisacárido péctico de cáscara de tuna mediante cromatografía de líquidos de tamiz molecular.

Tiempos de elución (min)	Masa molecular (kDa)	%
8.30	1320	30.57
10.10	318	37.91
13.30	33.7	19.44
15.58	4.2	12.08



**Figura 5.2-1.** Curva de calibración con estándares de diferentes masas moleculares (símbolos rojos). Los símbolos verdes corresponden a los volúmenes de elución de las distintas fracciones del polisacárido pectínico extraído de la cáscara de tuna. Datos obtenidos en cromatografía de líquidos de tamiz molecular, en la parte superior derecha se muestra el cromatograma de la muestra.

### **5.3 Determinación de azúcares neutros y ácido galacturónico**

Los resultados del análisis del contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico en polisacáridos pécticos de cáscara de tuna de diversos autores se resumen en el Cuadro 5.3-1. Las extracciones acuosas generaron polisacáridos de bajo contenido de ácido galacturónico (<52%), mientras que las extracciones realizadas bajo condiciones ácidas y alcalinas generaron polisacáridos con contenidos mayores al 50%. En el presente estudio se usaron condiciones de acidez débil (pH~4) empleando un agente quelante de calcio, estas condiciones de extracción fueron similares a las de Habibi *et al.*, (2004a) en cáscaras de *Opuntia ficus indica*. El contenido de ácido galacturónico estimado del polisacárido extraído en el presente trabajo es de 61.24% muy parecido al reportado por Forni *et al.*, (1994) (64%) y Habibi *et al.* (2004a) (64.5%), y superior a la pectina analizada por Majdoub *et al.*, (2001) (51.8%, 53.1%). Es importante recordar que de acuerdo a la FAO (FAO, 1992), el Codex de Química de Alimentos (FCC, 1996) y la Unión Europea (EU, 1998), para que un polisacárido péctico pueda considerarse como “pectina”, se requiere un mínimo de 65% de ácido galacturónico en su estructura (Rolin, 2002; Williats *et al.*, 2006). Por lo tanto, el polisacárido extraído en el presente trabajo no es estrictamente una pectina de acuerdo a la normatividad internacional ya que el contenido de ácido galacturónico se acerca al valor mínimo requerido, pero sus propiedades reológicas lo hacen atractivo como aditivo en la agroindustria (resultados que se discutirán posteriormente).

Con relación a la proporción de azúcares neutros, las condiciones de extracción usadas en el presente estudio generaron polisacáridos con proporciones similares a los polisacáridos estudiados por Forni *et al.*, (1994) y Habibi *et al.*, (2004a). De acuerdo al contenido de azúcares, el polisacárido extraído de la cáscara de tuna del presente estudio es un “galacto-arabinano” con ramnosa, xilosa y glucosa en su estructura, lo cual coincide con lo encontrado por Forni *et al.*, (1994). En contraste, Habibi *et al.*, (2004a), reportan como “arabinogalactano” al polisacárido extraído con agentes quelantes de la cáscara de frutos de *Opuntia ficus indica*, en donde de acuerdo al análisis de NMR, éste está conformado por una cadena principal de ácido

galacturónico-L-ramnosa, interrumpida por cadenas laterales de galactosa y grandes cadenas de arabinosa (hasta 30 unidades) unidas en el residuo L-ramnosil.

**Cuadro 5.3-1.** Contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico en polisacáridos pécticos extraídos de cáscara de tuna. Datos expresados en % peso/peso en base seca.

Glu	Xil	Ram	Gal	Ara	Ácido galacturónico	Referencia
3.9	3.3	-*	34.5*	9.0	64.3	Forni <i>et al.</i> , 1994 <sup>a</sup>
0	0	48.2	0	0	51.8	Madjoub <i>et al.</i> , 2001b <sup>b</sup>
0	0	46.9	0	0	53.1	Madjoub <i>et al.</i> , 2001a <sup>c</sup>
1.50	4.50	4.20	23.5	32.7	14.2	Habbibi <i>et al.</i> , 2004b <sup>d</sup>
3.30	0.90	3.70	4.0	17.20	64.5	Habbibi <i>et al.</i> , 2004a <sup>e</sup>
12.50	0.80	12.50	10.80	1.20	50.70	Habbibi <i>et al.</i> , 2005 <sup>f</sup>
-	26.88	18.27	44.08	10.75	23.40	Matsuhira <i>et al.</i> , 2005 <sup>g</sup>
<b>0.92</b>	<b>1.48</b>	<b>4.20</b>	<b>15.40</b>	<b>9.74</b>	<b>61.24</b>	<b>Presente trabajo</b>

Glu: glucosa

Xil: xilosa

Ram: ramnosa

Gal: galactosa

Ara: arabinosa

\*Forni *et al.*, (1994) reporta la suma de ramnosa y galactosa

<sup>a</sup>: Extracción ácida (HCl pH=2.0, 80°C)

<sup>b</sup>: Extracción acuosa a temperatura ambiente

<sup>c</sup>: Extracción alcalina (pH 7.0-7.5) con agentes quelantes (hexametáfosfato de sodio)

<sup>d</sup>: Acuosa 20°C

<sup>e</sup>: Extracción con agente quelante (EDTA 0.5%) en solución acuosa (60°C),

<sup>f</sup>: Extracción ácida fraccionada en 3 etapas

<sup>g</sup>: Extracción acuosa

En general, la composición de azúcares de las pectinas de cáscara de tuna reportada por diversos autores es muy similar, a excepción de Matsuhira *et al.*, (2005), quienes obtuvieron mucílagos. En el presente estudio no se realizaron análisis de NMR u otras técnicas que permitieran dilucidar la estructura del polímero, sin embargo, se considera de acuerdo a la literatura revisada, que es un polisacárido complejo con un homoramnogalacturonano como cadena principal con ramificaciones en éste compuestas de azúcares neutros en donde predomina la galactosa y la arabinosa. La diferencia en la composición de estos azúcares se debe probablemente a las condiciones de extracción usadas que pudieran degradar el polímero y/o a la especie de fruto usada como materia prima.

## 5.4 Contenido de minerales

Estudios previos sobre la composición de la cáscara de tuna revelan la presencia de minerales como parte de su estructura, encontrando potasio (3430), calcio (2090 ppm), magnesio (322 ppm), manganeso (72.9), (El Kossori *et al.*, 1998). Los resultados de la composición de minerales en el polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna se muestran en el Cuadro 5.4-1, en el que es notable la concentración de sodio, magnesio y calcio, lo cual probablemente se debe tanto al contenido mineral de la cáscara de origen como al uso de EDTA durante la extracción.

**Cuadro 5.4-1** Contenido de minerales en polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna. Valores promedio de 3 réplicas experimentales  $\pm$  desviación estándar.

Ca <sup>++</sup>		Na <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>		Mg <sup>++</sup>	
ppm	% p/p	ppm	% p/p	ppm	% p/p	ppm	% p/p
3361 $\pm$ 173	0.34 $\pm$ 1.	29038 $\pm$ 1676	2.9 $\pm$ 16.	2259 $\pm$ 130	0.23 $\pm$ 1.	4750 $\pm$ 243	0.47 $\pm$ 2.4
2	7	5	7	4	3	9	3

\*catión monovalente

\*\*catión divalente

ppm: partes por millón

%p/p: relación peso/peso expresado en porcentaje

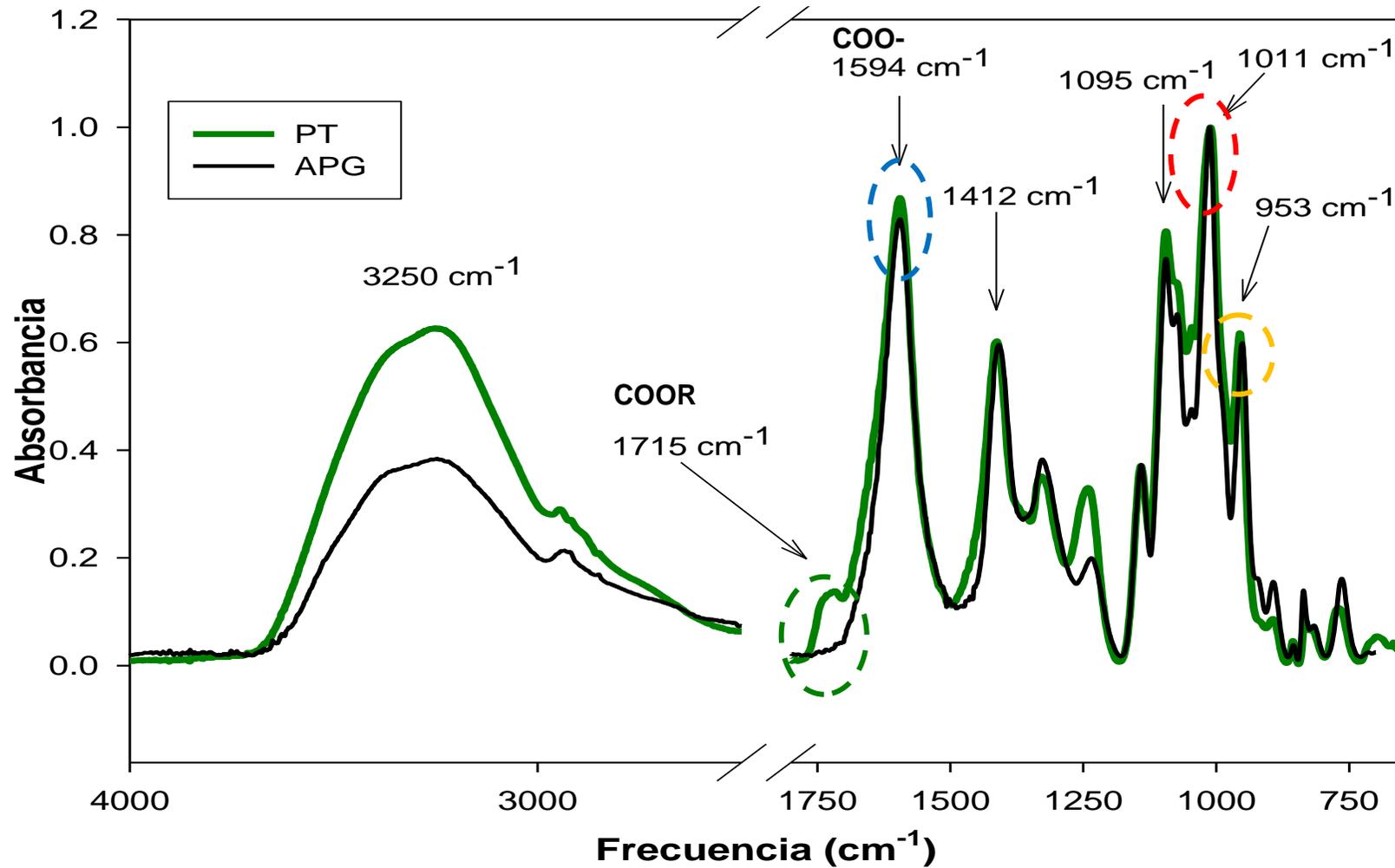
## 5.5 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier

### a) Comparación de estructura y grupos funcionales del polisacárido péctico de cáscara de tuna y ácido poligalacturónico

La espectroscopía de infrarrojo es una herramienta versátil para la determinación cualitativa y cuantitativa de especies orgánicas. La región más utilizada es la del infrarrojo medio que se extiende entre aproximadamente 670 y 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de absorción en el infrarrojo medio se usaron en este trabajo para determinar los grupos funcionales presentes en el polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna, comparando el espectro obtenido con aquellos de pectinas estándares (i.e. pectinas cítricas con grados de metoxilación conocidos). La identificación de los grupos funcionales del polisacárido tipo pectina de cáscara de tuna, se realizó en la región de radiación infrarrojo de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 600  $\text{cm}^{-1}$  (previo al análisis, una muestra de

polisacáridos pécticos se disolvió en agua desionizada y se sometió a diálisis usando una membrana de corte molecular de 12-14 kDa). En la Figura 5.5-1 se presenta el espectro de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) de ácido poligalacturónico (APG) y polisacárido tipo pectina de cáscara de tuna (PT). Se observa que en la región de  $3600\text{ cm}^{-1}$  a  $2500\text{ cm}^{-1}$ , la muestra de PT presenta un pico de mayor longitud y área con respecto a la muestra de APG. En esta región se presenta la absorción de los grupos hidroxilo del agua presente en la muestra.

La región comprendida entre  $1800\text{ cm}^{-1}$  y  $1500\text{ cm}^{-1}$  es específica para la absorción infrarrojo de grupos carboxilos libres y esterificados, por lo tanto permite estimar el grado de metoxilación de las pectinas (Chatjigakis *et al.*, 1998). El pico que presenta la PT en la región de  $1715\text{ cm}^{-1}$  (Figura 5.5-1, círculo verde) representa la absorción de los grupos carboxilo metoxilados ( $\text{COOCH}_3$ ). En polisacáridos con grupos éster, la banda de tensión del grupo C-O-C, sufre desplazamientos hacia números de onda mayores por efecto de la asociación por enlaces de hidrógeno. La tensión de los enlaces C=O y C-O de ácidos carboxílicos se presentan en longitudes de onda de  $1600\text{ cm}^{-1}$  y  $1414\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (McCann y Roberts 1991; Thygesen *et al.*, 2003), la señal en estas longitudes de onda indican una mayor proporción de pectina no esterificada. Por consiguiente, los picos observados en  $1594\text{ cm}^{-1}$  y  $1412\text{ cm}^{-1}$  representan la cantidad de ácidos urónicos no esterificados presentes en la muestra, la cual fue similar en proporción a la presente en APG. La ligera diferencia en la longitud del pico a  $1594\text{ cm}^{-1}$ , con respecto a la del estándar (APG), se presume se deba a la presencia de restos de ácido ferúlico en PT, el cual por poseer un anillo aromático debiera presentar picos de absorbancia en la región de  $1618\text{ cm}^{-1}$  a  $1583\text{ cm}^{-1}$ . El ácido ferúlico se ha reportado en pectinas de espinaca y remolacha (Thibault y Rinaudo 1986; Synytsya *et al.*, 2003); sin embargo hasta ahora no hay reportes de este compuesto en pectina de tuna.



**Figura 5.5-1.** Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de ácido poligalacturónico (APG) y polisacárido péctico de cáscara de tuna (PT). El círculo verde indica el pico de absorción que corresponde a los grupos COOR. El círculo azul indica el pico de absorción de los grupos COO<sup>-</sup>. La región comprendida de 1200 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la identificación de los enlaces C-OH, C-O-C y C-C de los azúcares neutros presentes en el polisacárido.

La región conocida como “*huella dactilar*” abarca las longitudes de onda  $1200\text{ cm}^{-1}$  y  $600\text{ cm}^{-1}$ . Pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de las moléculas dan lugar a cambios significativos en la distribución de los picos de absorción en esta región del espectro. En consecuencia, un estrecho parecido entre dos espectros en esta región constituye una fuerte evidencia de la identidad de los compuestos que producen los espectros (Skoog *et al.*, 2001).

La mayoría de los enlaces sencillos originan bandas de absorción en la región conocida como huella dactilar, como sus energías son aproximadamente iguales, se producen interacciones fuertes entre los enlaces vecinos. Las bandas de absorción son, por lo tanto, la combinación de estas distintas interacciones y dependen de la estructura del esqueleto completo de la molécula. En el caso de las pectinas, la región de  $1200\text{ cm}^{-1}$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$  está dominada por vibraciones de anillos y de tensión de enlaces C-OH y enlaces glucosídicos C-O-C.

Los picos observados en esta región en la Figura 5.5-1 corresponden básicamente a los enlaces C-OH, C-O-C y C-C en azúcares neutros. En trabajos realizados por Kačuráková *et al.*, (2000) se reportan picos de absorción FTIR a  $1097\text{ cm}^{-1}$  para enlaces glucosídicos de arabinosa, los cuales están presentes en PT de acuerdo al pico observado a  $1095\text{ cm}^{-1}$  coincidente con el análisis de azúcares neutros realizado (Inciso b).

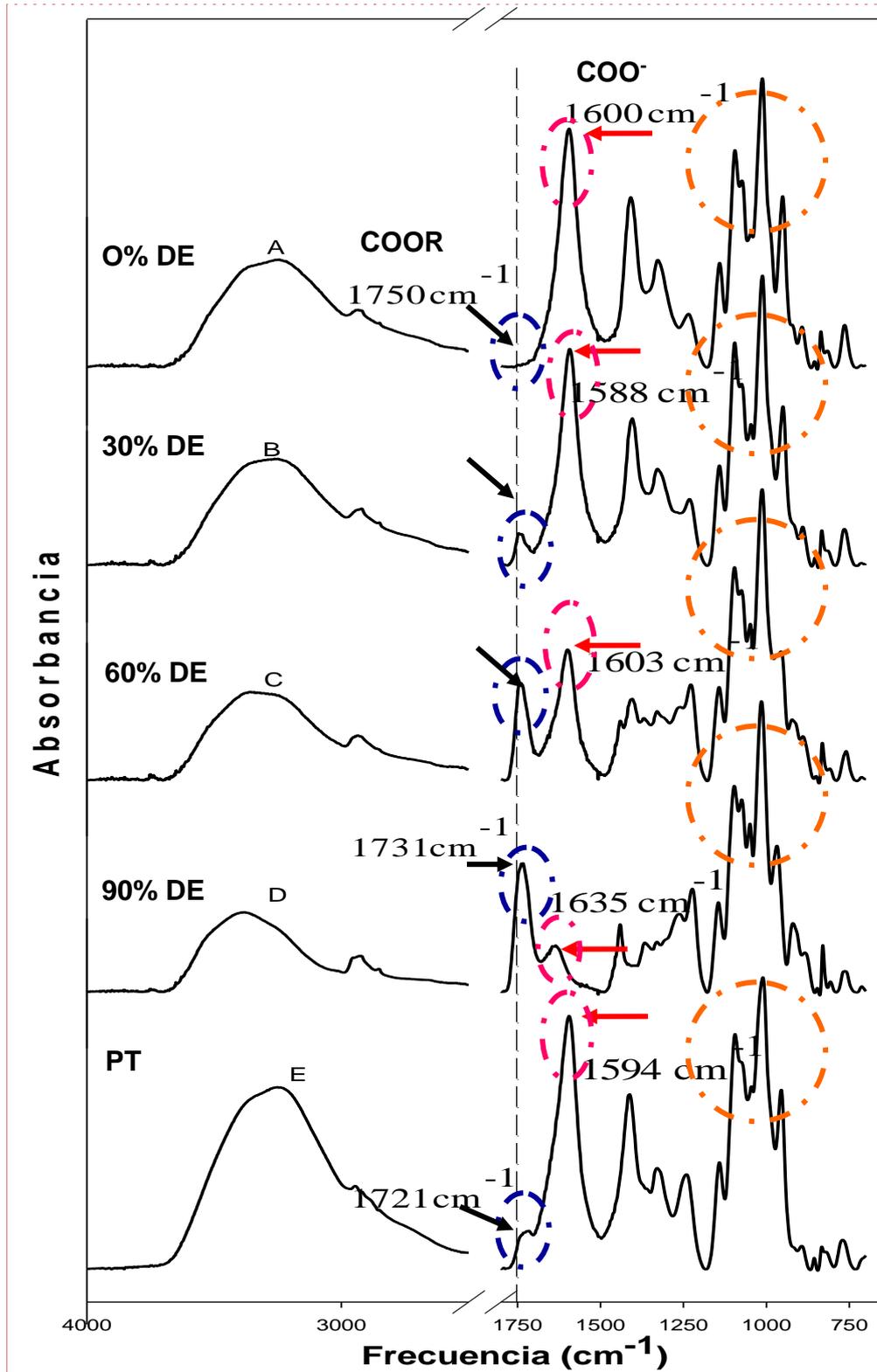
Los picos observados en la región  $995$  a  $1011\text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones en los enlaces glucosídicos y C-C de los anillos de azúcares neutros presentes en las cadenas laterales de la región lisa y pilosa de las pectinas (Kačuráková *et al.*, 2000; Synytsya *et al.*, 2003). El polisacárido extraído de la cáscara de tuna presenta picos de absorbancia en esta región en la misma longitud de onda que el estándar utilizado (APG), por lo tanto a través de este estudio se determina su naturaleza péctica.

## **b) Estimación del grado de metoxilación del polisacárido péctico de cáscara de tuna**

La comparación del espectro de infrarrojo de muestras estándar de pectinas cítricas con diferentes grados de esterificación y el polisacárido péctico de tuna presentan cierta similitud en la mayoría de las bandas de absorción. Se observa un pico de mayor amplitud en la zona de absorción de los grupos hidroxilo del agua, lo cual se atribuye a que la pectina de tuna presentaba mayor hidratación cuando se realizó el análisis (Figura 5.5-2, región de  $3250\text{ cm}^{-1}$ ).

En la Figura 5.5-2 se puede observar cómo a medida que incrementa el grado de metoxilación de cada una de las muestras se obtienen picos más grandes en la longitud de onda de  $1700\text{ cm}^{-1}$  (flechas), siendo ausentes en el ácido poligalacturónico con 0% de metoxilación (APG). En la Figura 5.5-2, se puede observar que el pico correspondiente a los grupos COOR del polisacárido péctico de tuna se aproxima al presentado en la pectina con 30% de metoxilación. Paralelamente, el pico en la región de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , el cual representa a los grupos carboxilo libres, disminuye conforme se reduce el grado de esterificación en las pectinas.

Finalmente, los picos de absorción en la región conocida como “*huella dactilar*” ( $1200\text{ cm}^{-1}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ ) son semejantes tanto en los estándares como en la muestra de PT analizada, lo que demuestra la similitud en la composición de azúcares neutros (polisacáridos estructurales).

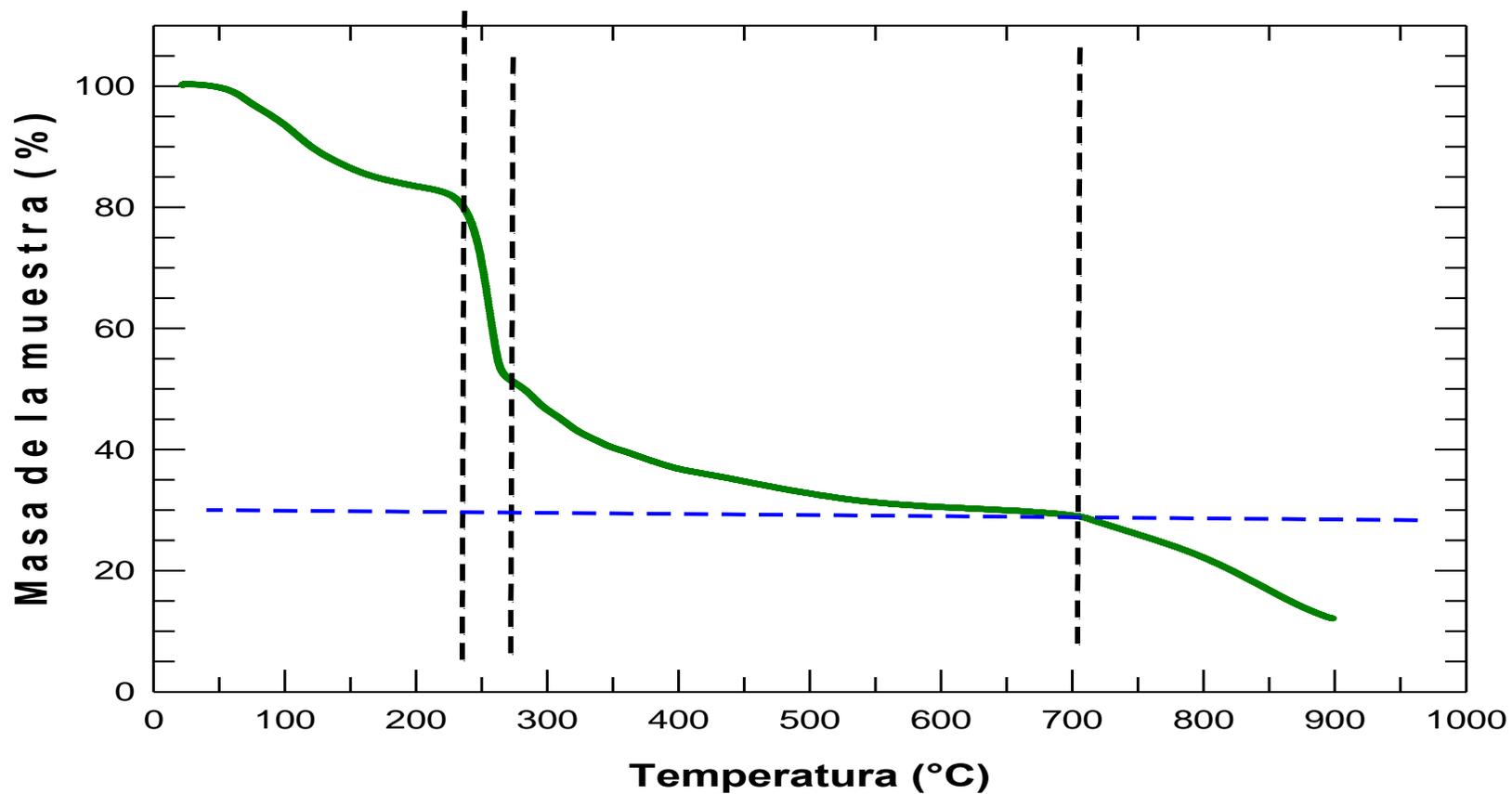


**Figura 5.5-2.** Espectros de infrarrojo por transformadas de Fourier. Comparación con espectros de ácido poligalacturónico (A: DE 0%) y pectinas cítricas con grados de esterificación conocido (B: DE 30%, C: DE 60%, D: DE 90%, PT: polisacárido péctico de cáscara de tuna). La flecha en negro indica el pico de absorción que corresponde a los grupos COOR. La flecha en rojo indica el pico de absorción de los grupos COO<sup>-</sup>.

## **5.6 Análisis Termogravimétrico del polisacárido péctico de cáscara de tuna**

El resultado del análisis térmico realizado en la muestra de polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna se muestra en la figura 5.6-1. La curva termogravimétrica (TGA), denota que la descomposición del polisacárido se lleva a cabo en 3 etapas en función de la temperatura a la que se expone de forma gradual desde 22°C hasta 900° C a una velocidad de calentamiento de 25°C/min. En la primera etapa, que se extiende hasta los 224°C, la muestra de polisacárido de tuna presenta una pérdida de masa (~18%) por evaporación de agua y material volátil presente.

En la segunda etapa (224°C-265°C) se observa una pérdida pronunciada de masa, cerca del 50% del total de la muestra se pierde, generando cenizas y minerales. La tercera etapa se extiende hasta los 703°C, intervalo de temperatura en el que más del 70% de la muestra se ha o degradado. La curva se proyecta hasta los 900°C, recuperando como resultado del análisis sólo carbono de la muestra. La pérdida total de masa durante el calentamiento fue de aproximadamente 89%, observando que a los 899°C se encuentra el 11.9% del total de la muestra analizada. Estos resultados revelan una estabilidad térmica importante del polisacárido péctico de tuna, la cual pudiese ser aprovechada no sólo por la industria alimentaria.



**Figura 5.6-1.** Análisis termogravimétrico en muestra de polisacárido tipo pectina de cáscara de tuna. El análisis se realizó usando una velocidad de calentamiento de 25 °C/min, en el intervalo de temperatura de 20°C a 900°C.

## **5.7 Caracterización reológica de soluciones de polisacárido péctico de cáscara de tuna**

Para la caracterización reológica de soluciones acuosas de polisacáridos pécticos obtenidos en este estudio, se realizaron pruebas rotacionales de cizalla estacionaria en soluciones acuosas de polisacárido al 0.5%, 1.0% y 2.0% p/p. La reometría de estas soluciones fue comparada con la de pectinas cítricas comerciales a las mismas concentraciones. La figura 5.7-1 muestra las curvas viscosidad *versus* velocidad de cizalla de soluciones acuosas de pectinas cítricas comerciales (GENU® Pectin, Kelco) con grado de esterificación de 9% y 70.8%, así como del polisacárido péctico extraído en este estudio.

Contrariamente a las pectinas cítricas comerciales, las muestras de polisacárido péctico de cáscara de tuna mostraron un comportamiento no newtoniano, con valores de viscosidad decrecientes conforme se incrementa la velocidad de cizalla, siendo más evidente esta pseudoplasticidad al incrementar la concentración de polisacárido. Indistintamente al grado de metoxilación, las pectinas cítricas muestran un comportamiento newtoniano o ligeramente pseudoplástico (soluciones al 2% p/p). Las pectinas cítricas de alto grado de metoxilación mostraron viscosidades mayores a las de bajo grado de metoxilación. Esto se debe a que las pectinas altamente esterificadas poseen mayor número de grupos hidroxilos capaces de interactuar con el agua a través de puentes de hidrógeno, dando lugar a un incremento en la viscosidad del medio por la formación de agregados macromoleculares.

En contraste, las pectinas de bajo metoxilo, poseen gran número de grupos carboxilo que en solución proveen de sitios cargados a la macromolécula de pectina, lo cual favorece las repulsiones electrostáticas entre cadenas vecinas, por lo que estas pectinas requieren la adición de cationes, preferentemente calcio, para formar puentes de unión entre cadenas de pectinas dando lugar a redes tridimensionales estables, “geles pécticos”.

Los datos de esfuerzo *versus* velocidad de cizalla de las soluciones estudiadas reológicamente se ajustaron a los modelos de Ostwald de Waele (Ecuación 5).

Los parámetros de este modelo se presentan en el cuadro 5.6-1 y las curvas de flujo con el ajuste al modelo se presentan en la figura 5.6-2.

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (5)$$

$\sigma$ = esfuerzo (Pa)

$\dot{\gamma}$  = velocidad de cizalla ( $s^{-1}$ )

K= índice de consistencia (Pa  $s^n$ )

n= índice de flujo (-)

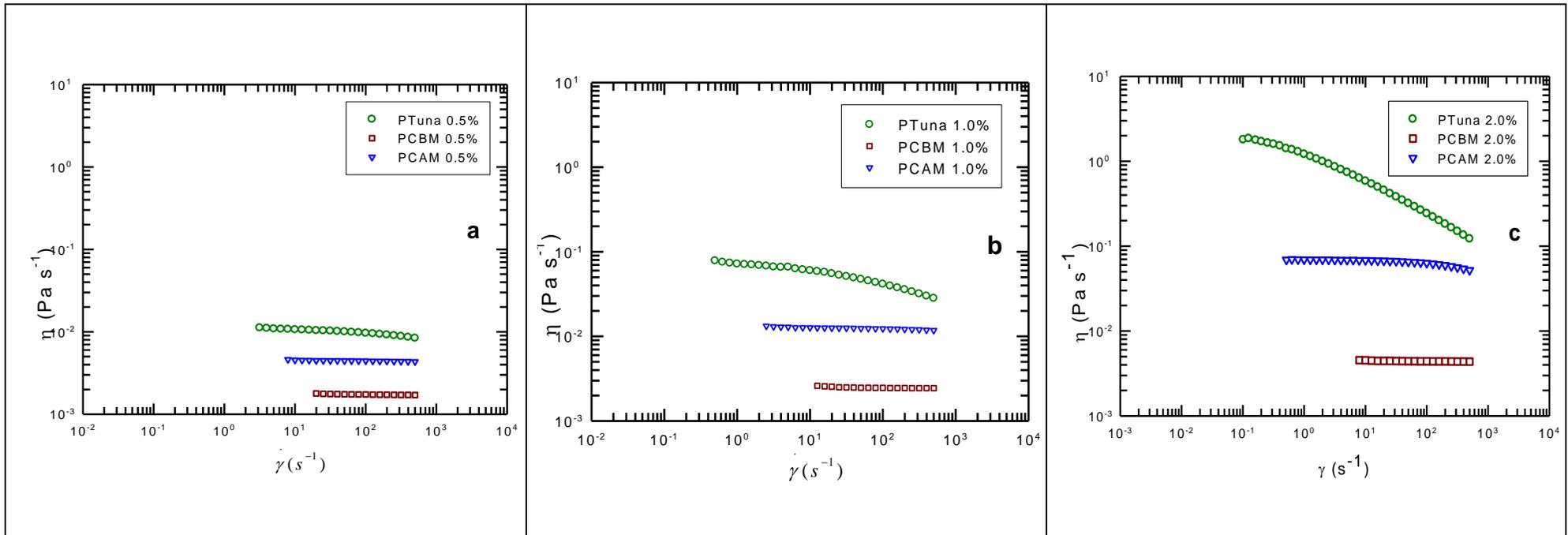
**Cuadro 5.7-1.** Parámetros reológicos del modelo Ostwald de Waele de soluciones acuosas de polisacárido péctico de cáscara de tuna y pectinas cítricas comerciales. Determinaciones realizadas a 25°C. Valores promedio + desviación estándar.

	K (Pa $s^n$ )	n(-)	R <sup>2</sup>
<b>0.5 %</b>			
PTuna	0.014 $\pm 4 \times 10^{-4}$	0.92 $\pm 5 \times 10^{-3}$	0.99 $\pm 0.02$
PCBM	0.001 $\pm 4.7 \times 10^{-6}$	0.99 $\pm 4 \times 10^{-4}$	1.00 $\pm 0.01 \times 10^{-2}$
PCAM	0.004 $\pm 2.9 \times 10^{-5}$	0.99 $\pm 1 \times 10^{-3}$	1.00 $\pm 0.11 \times 10^{-2}$
<b>1.0 %</b>			
PTuna	0.115 $\pm 5 \times 10^{-3}$	0.78 $\pm 7 \times 10^{-3}$	0.99 $\pm 0.762$
PCBM	0.002 $\pm 7.4 \times 10^{-6}$	0.99 $\pm 9 \times 10^{-3}$	1.00 $\pm 3 \times 10^{-4}$
PCAM	0.014 $\pm 2 \times 10^{-4}$	0.97 $\pm 9 \times 10^{-3}$	1.00 $\pm 8 \times 10^{-4}$
<b>2.0%</b>			
PTuna	1.565 $\pm 0.439$	0.59 $\pm 5 \times 10^{-3}$	0.99 $\pm 3 \times 10^{-4}$
PCBM	0.005 $\pm 1 \times 10^{-5}$	0.99 $\pm 4 \times 10^{-4}$	1.00 $\pm 4 \times 10^{-4}$
PCAM	0.105 $\pm 4.7 \times 10^{-4}$	0.89 $\pm 7 \times 10^{-3}$	0.99 $\pm 1 \times 10^{-4}$

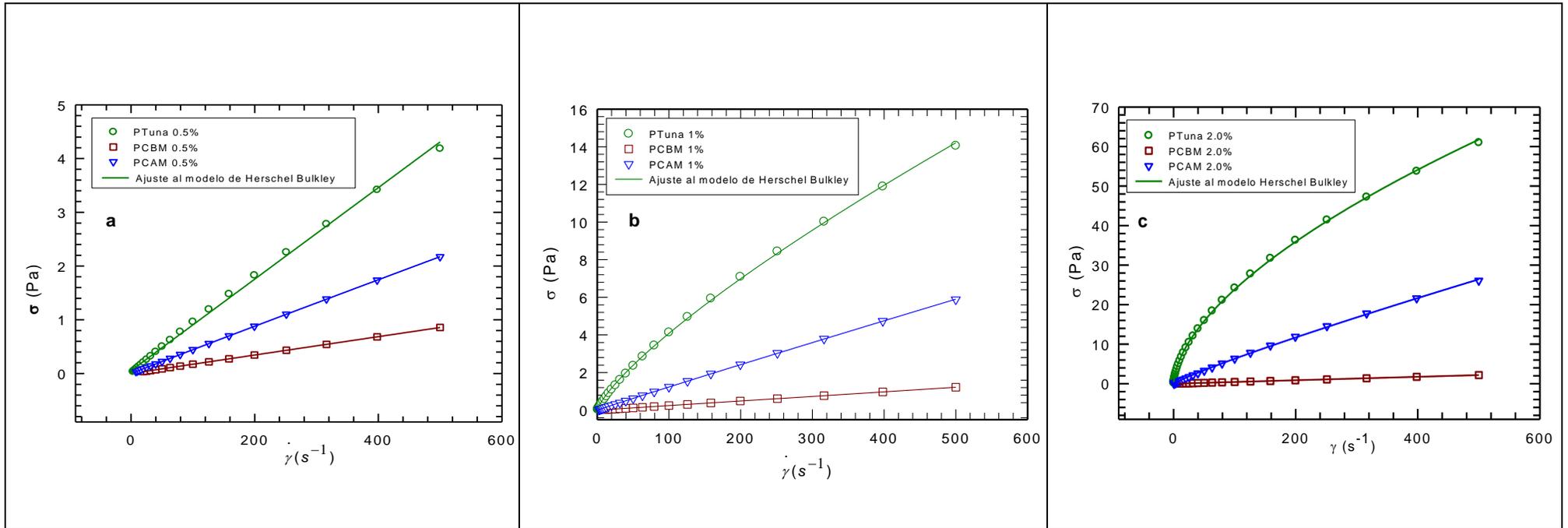
PTuna: polisacárido péctico de cáscara de tuna

PCBM: pectina cítrica comercial GENU® Pectin type LM-5 CS, 9% de metoxilación

PCAM: pectina cítrica comercial GENU® Pectin com 70.8% de metoxilación.



**Figura 5.7-1** Viscosidad de dispersiones de polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna y pectinas comerciales; a) soluciones al 0.5%, b) soluciones al 1.0%, c) soluciones al 2.0%. Determinaciones realizadas por duplicado en la geometría de cilindros concéntricos de doble pared, a 25°C. (PTuna: polisacárido péctico de cáscara de tuna, PCBM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin type LM-5 CS, 9% de metoxilación; PCAM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin con 70.8% de metoxilación).



**Figura 5.7-2** Curvas de flujo de dispersiones de polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna y pectinas comerciales; a) soluciones al 0.5%, b) soluciones al 1.0%, c) soluciones al 2.0%. Determinaciones realizadas por duplicado en la geometría de cilindros concéntricos de doble pared, a 25°C. Ajuste al modelo Ostwald de Waele (Ecuación 5). (PTuna: polisacárido péctico de cáscara de tuna, PCBM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin type LM-5 CS, 9% de metoxilación; PCAM: Pectina cítrica comercial GENU® Pectin con 70.8% de metoxilación).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ajuste al modelo de Ostwald de Waele, el polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna presenta valores de índices de flujo menores a la unidad, las soluciones de este polisacárido son desde ligeramente ( $n=0.92$ ) hasta moderadamente pseudoplásticas ( $n=0.6$ ). Con respecto al índices de consistencia, las soluciones de polisacárido péctico de tuna mostraron valores de 3 a 15 veces mayores al índice de consistencia de pectinas cítricas de alto metoxilo; mientras que con respecto a las pectinas de bajo metoxilo, los índices de consistencia son hasta 340 veces mayores (pectina al 2%).

Comparando los resultados de este trabajo con la caracterización reológica de los polisacáridos pécticos extraídos y analizados por Lozada-Carbajal (2007), se observa que tanto  $K$  como  $n$  están en el mismo orden de magnitud; Lozada-Carbajal reportó para pectina de tuna al 1% valores de  $K=0.140 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$  y  $n=0.71$ .

## Capítulo 6

### CONCLUSIONES

#### 6.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados de cromatografía de líquidos, el polisacárido extraído de la cáscara de tuna (*Opuntia spp.*) presenta los siguientes rasgos químico-estructurales.

- × Es un polisacárido compuesto por 61.24% de ácido galacturónico y azúcares neutros en donde predominan: galactosa (15.40%), arabinosa (9.74%), ramnosa (4.2%), xilosa (1.48%) y glucosa (0.92%).
- × Es un polisacárido complejo formado por fracciones de distintas masas moleculares: 1320 kDa (30.6%), 318 kDa (38%), 33.7 kDa (19.4%) y 4.2 kDa (12.1%). Esta distribución de masas moleculares es característica de los polisacáridos pécticos y está en función de las condiciones de extracción.

Los análisis de FTIR confirman la presencia de un polímero con los rasgos estructurales típicos de pectinas. A través de este estudio se puede estimar un grado de metoxilación en el polisacárido péctico de tuna aproximado al 30%.

El análisis de termogravimetría denota la estabilidad térmica del polímero en estado cristalino, su degradación térmica se inicia alrededor de 224°C.

Las propiedades reológicas de dispersiones acuosas (0.5, 1 y 2% p/p) del polisacárido obtenido de la cáscara de tuna mostraron índices de consistencia ( $K$ : 0.01-1.56 Pa.s<sup>n</sup>) y de pseudoplasticidad ( $n$ : 0.92-0.6) superiores a pectinas cítricas comerciales líderes en el mercado de estabilizantes alimentarios.

Por lo tanto, en base a los datos de volúmenes de desperdicio de tuna reportados por el Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON), así como los resultados de este trabajo, es posible sugerir a la cáscara de la tuna como una nueva fuente de hidrocoloides espesantes y gelificantes, que pudieran ser de amplio uso en la agroindustria (i.e. industria de confituras, cosméticos, recubrimientos, bebidas lácteas, productos farmacéuticos, adhesivos, biopelículas, shampoo, cremas, etc.).

## Capítulo 7

### RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

#### 7.1 Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos de esta investigación, se proponen las siguientes recomendaciones para trabajos futuros:

- ✘ Optimizar el proceso de extracción para generar mayores productividades sin detrimento de las propiedades del polisacárido.
- ✘ Realizar estudios de reología en cizalla oscilatoria para determinar la cinética de gelificación de este polisacárido y el efecto que tiene el calcio en la gelificación y en las propiedades viscoelásticas de los geles de polisacárido péctico de tuna. Hasta la fecha no se han encontrado reportes de este tipo de estudios en este biopolímero.
- ✘ Cuantificar mediante FTIR o HPLC el grado de metoxilación del polisacárido obtenido.
- ✘ Evaluar la funcionalidad de este biopolímero en sistemas alimentarios modelo.

## Capítulo 8

### REFERENCIAS

#### 8.1 Referencias Bibliográficas

Albersheim, P., Nothnagel, E. A., McNeill, M., Dell, A. (1983). Host-pathogen interactions XXII. A galacturonic acid oligosaccharide from plant cell walls Elicits Phytoalexins. *Plant Physiology*. 71(4): 916-926.

American Chemical Society (1944). Report of Committee for Revision of Nomenclature of Pectic Substances. *Chemistry Engineer News*, 22, 105-106.

AOAC (1998). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

American Dietetic Association (2008). Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber, *Journal of the American Dietetic Association*, 108, 1716-1731.

[ASERCA] Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (1999). La tuna, base del desarrollo de las culturas mesoamericanas. *Claridades Agropecuarias*, 71, 3-28.

Azcon-Bieto, J.; Talón M. (1993a). La fisiología vegetal y su impacto social. La célula vegetal, 3ª. reimpresión Editorial Interamericana McGraw-Hill. Madrid España, pp. 1-16.

Azcon-Bieto, J.; Talón M.; (1993b). Pared celular. Estructura y función. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Madrid España, pp. 1-21.

Bravo-Hollis, H. (1978). Las cactáceas de México, Volumen I. Universidad

Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. México D.F., Dirección General de Publicaciones, pp. 23-45.

Cárdenas, A.; Goycoolea, F. M. Rinaudo, M. (2008). On the gelling behavior of "nopal" (*Opuntia ficus.indica*) low metoxil pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73, 212-222.

Cárdenas, A.; Higuera-Ciapara, I.; Goycoolea, F. M. (1997). Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5, 152-158.

Carpita, N.C., Gibeaut, D.M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the wall during growth. *Plant Journal*, 3, 1-30.

Chang, K.C.; Dhurandhar, N.; You, X.; Miyamoto, A. (1994). Cultivar/location and processing methods affect the quality of sunflower pectin. *Journal of Food Science*, 602, 49-59.

Charley, H. (1995). Tecnología de los alimentos 3<sup>ra</sup> reimpresión, Editorial Limusa S.A de C.V. Grupo Noriega Editores, México D.F., 727-731.

Chatjigakis, A.K.; Pappas, C.; Proxenia, N.; Kalantzi, O.; Rodis, P.; Polissiou, M. (1998). FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes. *Carbohydrate Polymers*, 37, 395-408.

[CONAZA] Comisión Nacional de las Zonas Áridas (1996). Nopal tunero *Opuntia* spp cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto Nacional de Ecología. México, 45, 56-78.

Contreras-Esquivel, J.C. (2003). Purificación y caracterización de poligalacturonasas de *Aspergillus kawachii*. Tesis de Doctorado. Facultad de

Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata, Río de la Plata, Buenos Aires Argentina.

Contreras-Esquivel, J.C.; Voget, C.E.; Vita, C.E.; Espinoza-Pérez, J.D.; Renard, C.M. (2006). Enzymatic extraction of lemon pectin by endo-poligalacturonase from *Aspergillus niger*. *Food Science and Biotechnology*, 15, 163-167.

Contreras-Esquivel, J.C., Espinoza-Pérez, J.D., Montañez, J.C., Charlez-Rodríguez, A.V., Renovato, J.; Aguilar C.N., Rodríguez-Herrera, R.; Wicker, L (2007). Extraction and Characterization of Pectin from novel sources. *American Chemical Society*, 935, 215-229.

Davidson, M. W., (2008). Cell biology and microscopy structure and function of cells and viruses. *Molecular Expressions*.

<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plants/cellwall.html>. Último acceso: Mayo 2008.

El Kossori, R.A.; Villaume, C.; El Boustani, E.; Sauvaire, Y.; Mejean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 52: 263-270.

Forni, E., Penci, M., Polesello, A. (1994). A preliminary characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) peel. *Carbohydrate Polymers*, 23, 231-324.

Gatica, L., (2006). La tuna un diamante en bruto. *Revista del Campo, Chile Potencia Alimentaria*.

[http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/2490/La\\_tuna\\_un\\_diamante\\_en\\_bruto.html](http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/2490/La_tuna_un_diamante_en_bruto.html). Último acceso: Diciembre 2008.

Goldberg, R.; Morvan, C.; Jauneau, A.; Jarvis M.C. (1996). Methyl-esterification, de-esterification and gelation of pectins in the primary cell wall. *Progression in Biotechnology*, 14. 561-568.

Granados S.D.; Castañeda, P.A.D. (1991). El nopal; historia, fisiología e importancia frutícola. Editorial Trillas. México D.F., pp. 55-75, 112, 227.

Habibi, Y.; Heyraud, A.; Mahrouz, M.; Vignon, M.R. (2004a). Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339, 1119-1127.

Habibi, Y.; Mahrouz, M.; Marais, M.F.; Vignon, M.R. (2004b). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339, 1201-1205.

Habibi, Y.; Mahrouz, M.; Vignon, M.R. (2005). Arabinan-rich polysaccharides isolated from the endosperm of the seed of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60, 319-329.

Handford, M. (2006). Biosynthesis of plant cell walls. En: *Ciencia e Investigación Agraria*, 33(3), 179-196.

Herbstreith y Fox. (2003). Pectin, The Specialists for Pectins.  
[www.herbstreith-fox.com](http://www.herbstreith-fox.com). Último acceso: Agosto 2008

Hughes, L.; Ledward, D.A.; Mitchell, J.R.; Summerlin, C. (1980). The effect of some meat proteins on the rheological properties of pectate and alginate gels. *Journal of Texture Studies*, 11: 247-256.

Jarvis, M.C. (1992). Control of thickness of collenchymas cell walls by pectins. *Plants*, 187, 218-220.

Jiang, J.R.; Aukema, H.M.; Davidson, L.A.; Lupton, Y.; Chang, W.; Chapkin R.S. (1995). Localization of Protein Kinase C Isozymes in Rat Colon. *Cell Growth and Differentiation*, 6: 1381-1386.

Kačuráková, M.; Capek, P.; Sasinková, V.; Wellnwer, N.; Ebringerová, A.; (2000). FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polimers*, 43, 195-203.

Karawya, M.S.; Wassel, G.M.; Baghdadi, H.H.; Ammar, N.M. (1980). Mucilages and pectins of *Opuntia*, *Tamarindus* and *Cydonia*. *Planta Medica*, 68-75.

Lapasin, R. y Prici, S. (1995). Rheology of polysaccharide systems En *Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications*. Chapman and Hall, Gran Bretaña, pp 267-306.

Lakshminarayana, S.; Alvarado, L.; Perez, F. (1980). The development and postharvest physiology of the fruit of prickly pear (*Opuntia amyoclaea* Tenore). *Tropical Foods*, 1, 69-93.

Lozada-Carbajal, M.A. (2007). Extracción y caracterización reológica de polisacáridos tipo pectina de la cáscara de tuna (*Opuntia* spp.). Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo. México.

McCann, M.C.; Roberts, K. (1991). Architecture of the primary cell wall. En: *The cytoskeletal basis of plant growth and form*. Londres C.W. Academia de Londres, pp 109-129.

Majdoub, H.; Roudesli, S.; Dertrani, A. (2001a). Polysaccharides from prickly pear peel and nopals of *Opuntia ficus-indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behavior. *Polymers International*, 50, 552-560.

Majdoub, H.; Roudesli, S.; Picton, L.; Le Cerf, D.; Muller, G.; Grisel, M. (2001b). Prickly pear nopals pectin from *Opuntia ficus-indica* physico-chemical study in dilute and semi-dilute solutions. *Carbohydrate Polymers*, 46, 69-79.

Matsuhiro, B., Lillo, L.E., Sáenz, C., Urzúa, C.C., Zárate, O. (2005). Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate Polymers*, 63, 263-267.

Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B. Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*). *Food Hydrocolloids*, 14, 417-424.

Mohamed-Yassen. Y.; Barringer, S. A.; Splittstoesse, W. E. (1996). A note on uses of *Opuntia* spp. in Central/North America. *Journal of Arid Environment*, 32, 347-353.

Navarro, G.; Navarro, S. (1985). Sustancias pécticas: química y aplicaciones. Secretariado de publicaciones e intercambio científico. Universidad de Murcia. 129-157.

Oosterveld, A.; Beldman, G.; Searle-Van Leeuwen, M.J.F.; Voragen, A.G.J.; (2000). Effect of enzymatic deacetylation on gelation of sugar beet pectin in the presence of calcium. *Carbohydrate Polymers*, 43, 249-256.

Paulsen, B.S., Barsett, H. (2005). Bioactive pectic polysaccharides. *Advanced Polymer Science*, 186, 69-101.

Pilnik, W., Voragen, A.G.J. (1970). Pectic substances and other uronides. En: *The biochemistry of fruits and their products*. Volumen I, Editorial Humle, Academic Press. Londres, Inglaterra. 53-85.

Pimienta-Barrios, E. (1994). Prickly pear (*Opuntia* spp.). A vulnerable fruit crop for the semi-arid lands of México. *Journal of Arid Environment*, 28, 1-11.

Ralet, M.C.; André-Leroux, G.; Quéméner, B.; Thibault J.F.; (2001). Sugar beet (*Beta vulgaris*) pectins are covalently cross-linked through diferulic bridges in the cell wall. *Phytochemistry*, 66, 2800-2818.

Ralet, M.C; Cabrera, J.C.; Bonin, E.; Quéméner, B.; Hellerin, P.; Thibault, J.F. (2005). Mapping sugar beet pectin acetylation pattern. *Phytochemistry*, 66, 1832-1843.

Rolin, C., Nielsen, B.U., Glahn, P.E. (1998). Pectin. Polysaccharides. Structural diversity and function versatility. S. Dumitriu (Ed.) Marcel Dekker: Nueva York, pp: 337-431.

Rolin, C. (2002). Commercial pectin preparations. En: *Pectins and their manipulation*, G.B. Seymour, J.P. Knox (eds.), Blackwell Publishing CRC Press. Estados Unidos de América, pp 1-25.

Ros, J.M.; Schols, H.A.; Voragen, A.G.J. (1996). Extraction, characterization of lemon peel pectins. *Carbohydrate Research*, 282, 271-284.

SAGARPA (1999). Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) <http://www.siea.sagarpa.gob.mx/InfOMer/Analisis/antuna.html>. Último acceso: Mayo 2007

SAGARPA (2001). Caracterización de la cadena agroalimentaria del nopal tunero. <http://www.snitt.sagarpa.org.mx/pdfs/demanda/nopal-tunero.pdf>. Último acceso: Noviembre 2007

Schols, H.A.; Voragen, A.G.J. (2002). The chemical structure of pectins. En: *Pectins and their manipulation*, G.B. Seymour, J.P. Knox (eds.), Blackwell Publishing CRC Press. Estados Unidos de América, pp 1-25.

Seymour, G.B.; Taylor J.E.; Tucker, G.A. (1993). Biochemistry of fruit ripening. Chapman and Hall. Cambridge Gran Bretaña, pp 17-24.

[SIACON] Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (2004). Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA). <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/sistemas/siacon/SIACON.html>. Último acceso Octubre 2007

[SIAP] Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA (2008). Anuario estadístico de la producción agrícola. [http://reportes.siap.gob.mx/aagricola\\_siap/icultivo/index.jsp](http://reportes.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp). Último acceso: Diciembre 2008

[SIEDRUS] Sistema Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable. Análisis de factibilidad del cultivo de la tuna (2008). Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA).

<http://www.campomexicano.gob.mx/>, <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>. Último acceso: Julio 2008

Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. (2001). Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo. En: *Principios de Análisis Instrumental*, 5<sup>ta</sup> ed. McGraw-Hill/Interamericana de España, Madrid, España, pp 400-458.

Solomon, E.P.; Berg, L.R.; Martin, D.W. (2001). Membranas biológicas. En: *Biología*, 5<sup>ta</sup> ed. McGraw-Hill/Interamericana Editores S.A. de C.V., Madrid, España, pp 108-111.

Synytsya, A.; Čopíková, J.; Matějka, P.; Machovič, V. (2003). Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydrate Polymers*, 54, 97-106.

Terrazas, J.J (2007). Caracterización de pectina de nopal. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo Coahuila. México.

Thibault, J.F.; Rinaudo, M. (1996). Chain of pectic molecules during calcium induced gelation. *Biopolymers*, 25, 455-468.

Thygesen, L.G, Løkke, M.M.; Micklander, E.; Engelsen, S.B. (2003). Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. *Trends in Food Science and Technology*, 14, 50-57.

Vilariño, C.; Del Giorgio, J.F.; Hours, R.A.; Cascone, O. (1992). Spectrophotometric method for fungal pectinesterase activity determination. *Food Science and Technology*, 26, 107-110.

Voragen, F., Beldelman, G., Schols, H. (2001). Chemistry and enzymology of pectins. En *Advanced Dietary Fiber Technology*. Editorial Blackwell Science, Irlanda, 379-398.

Voragen, A.G.J.; Pilnik, W., Thibault, J.-F.; Axelos, M.A.V.; Renard, C.M.G.C. (1995). Pectins. En: *Food Polysaccharides and their Applications*. Stephen, A.M. New York, Marcel Dekker: 287-339.

Wallace, R.S.; Gibson, A.C. (2002). Evolution and sistematics. En: *Cacti biology and uses*. Park S. Nobel (ed). Universidad de California Press. California, Estados Unidos de América, 280-287.

Willats, G.T.; Knox, J.P.; Mikkelsen, J.D.; (2006). Pectin: new insights into an older polymer are starting to gel. *Trends of Food Science and Technology*, 17, 97-104.

Zhong, H.; Williams, M.A.; Keenan, R.D.; Goodall, D.M.; Rolin, C. (1997). Separation and quantification of pectins using capillary electrophoresis, a preliminary study. *Carbohydrate Polymers*, 32, 27-32.