



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

TESIS DE MAESTRÍA

Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar).

Para obtener el grado de:
Maestra en Ciencia de los Alimentos

Presenta
Ing. Felipa Reséndiz Vega

Directora
Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández

Codirector
Dr. Norberto Chavarría Hernández

Tulancingo de Bravo, Hgo., México, Septiembre de 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Agropecuarias
School of Forestry and Environmental Studies
Maestría en Ciencia de los Alimentos

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar)", que desarrolla la estudiante Felipa Reséndiz Vega

Asistentes:

Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández
Dr. Norberto Chavarría Hernández
Dra. Ma del Rocío López Cuellar
Dra. Mayra Alejandra López Ortega

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Felipa Reséndiz Vega, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 23 de septiembre de 2024.

Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández

Dr. Norberto Chavarría Hernández

Dra. Ma del Rocío López Cuellar

Dra. Mayra Alejandra López Ortega



[Handwritten signatures of the committee members]



Avenida Universidad km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
Teléfono +52 (771) 71 72000
maestria_alimentos@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Fisicoquímica y Laboratorio de Análisis Especiales del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Laboratorio de Reología y Propiedades Funcionales de la Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, UNAM, bajo la asesoría de la Dra. María Guadalupe Sosa Herrera y la Dra. Laura Patricia Martínez Padilla. La dirección de este trabajo estuvo a cargo de la Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández y del Dr. Norberto Chavarría Hernández.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo mi máxima casa de estudios, por ser la institución que me formó en la Licenciatura y ahora en la maestría.

Agradezco a CONACYT por la beca otorgada.

A mis directores de tesis, mi admiración y agradecimiento por la paciencia que me tuvieron durante el transcurso de este tiempo, gran parte de lo que soy se los debo a ustedes, muchas gracias.

A Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández por haberme tenido infinita paciencia, por haber sido más que una asesora, la persona que confió en mí y me apoyó incondicionalmente.

Al Dr. Norberto Chavarría por su apoyo y asesoría, me es muy grato mencionar que forme parte de este gran cuerpo de trabajo, no tengo palabras para expresar la admiración y respeto que siento hacia usted.

A la Dra. Ma. Guadalupe Sosa Herrera y Dra. Laura Patricia Martínez Padilla del Laboratorio de Propiedades Reológicas y Funcionales en Alimentos de la FES-Cuautitlán perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo recibido durante mi estancia.

A los profesores que en su momento me impartieron clases, gracias.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a Dios porque sin su voluntad nada se mueve en este mundo

A mi familia: mi esposo **Miguel**, mi hijo **Franco Antonio**, mi hija **Amber Mariel** por el apoyo y por ser el aliciente que me impulsó a culminar con esta etapa.

A mis padres **Fidel Reséndiz Rojo y María Elena Vega Francisco** porque ustedes son mi inspiración, mi fortaleza.

A mis hermanos y cuñados por estar conmigo en todo momento: Anabel, Antonia, Gerardo, Yesica, Gabriela, Javier, Rogelio, Jorge.

A mis sobrinos que, aunque son unos pequeños, quiero que se sientan orgullosos de su tía.

A mis tíos, Ide, Juana, Leticia, Graciela, Juan, Yolanda gracias por todo su apoyo.

A los que se fueron y dejaron un enorme vacío en mi vida, yo sé que desde allá donde están me siguen cuidando y llenando de bendiciones, los extraño y los amaré eternamente: Abuelos Juan, Abuelas Esperanza, Mamá Betita, Abuelo Robustiano, Tío Juan, Tía Margarita, Tía Pilar, Suegro Francisco, Abuelo Miguel.

A mis primos: Carlos Alberto, Cintia, Alejandro, Yeslin y a la familia Morales Huerta, gracias por su apoyo

A usted, **Francisco Morales González**, una persona excepcional, me enseñó tantas cosas en vida y aún después de su partida me sigue guiando, este trabajo se lo dedico a usted porque una de sus enseñanzas fue no dejar las cosas inconclusas y a no rendirme. **GRACIAS.**

ÍNDICE GENERAL

Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIAS.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
NOMENCLATURA.....	vi
SÍMBOLOS GRIEGOS.....	vii
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	1
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	5
2.1 Estructura química de las pectinas.....	5
2.2 Mecanismo de gelificación de las pectinas.....	7
2.3 Usos de pectinas.....	10
2.4 Fuentes de pectinas.....	11
2.5 Propiedades reológicas de pectinas.....	16
2.6 Emulsiones.....	23
2.6.1 Formación y estabilización de emulsiones alimentarias.....	23
2.7 Hidrocoloides como emulsificantes en alimentos.....	34
2.7.1 Propiedades emulsificantes de pectinas.....	35
2.8 Polisacáridos pécticos extraídos de la cáscara de tuna.....	40
3. Justificación.....	44
4. Objetivos.....	46
5. Hipótesis.....	47
6. Materiales y métodos.....	48
6.1 Materiales.....	48
6.2 Métodos.....	48
6.2.1 Obtención del polisacárido.....	48
6.2.2 Análisis proximal.....	50

6.2.3 Contenido de grupos acetilo y grado de esterificación.....	52
6.2.4 Masas molares.....	53
6.2.5 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier	54
6.2.6 Viscosidad intrínseca.....	54
6.2.7 Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico	56
6.2.7.1 Preparación de soluciones	56
6.2.7.2 Medición de la tensión superficial en soluciones acuosas de pectina de cáscara de tuna.....	57
6.2.8 Estabilidad de emulsiones con polisacárido péctico de tuna.....	58
6.2.9 Reología de la emulsión.....	60
7. Análisis y Discusión de resultados	61
7.1 Análisis proximal	61
7.2 Contenido de grupos acetilo y porcentaje de esterificación en pectina extraída de cáscara de tuna.....	62
7.3 Distribución de masas moleculares	63
7.4 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier	65
7.5 Determinaciones reológicas	68
7.5.1 Viscosidad intrínseca.....	68
7.6 Propiedades de superficie	73
7.6.1 Medición de la tensión superficial en soluciones acuosas de pectina de cáscara de tuna.....	73
7.7 Medición de la estabilidad de emulsiones	84
7.7.1 Reología de la emulsión.....	87
8. Conclusiones	90
9. Recomendaciones	91
9. Referencias Bibliográficas	92

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1 Fuentes a partir de las cuales se han aislado pectinas o polisacáridos pécticos (Modificado de Ovodov (2009)). 13**
- Cuadro 2 Datos de viscosidad intrínseca y parámetros macromoleculares de algunas pectinas de distintas fuentes. 21**
- Cuadro 3 Características de las emulsiones (Dalglish, 2006). 26**
- Cuadro 4 Características moleculares de muestras de pectina de Okra que han sido usadas como emulsificantes 39**
- Cuadro 5 Contenido de azúcares, proteína, grado de metoxilación y grado de acetilación de algunas pectinas de distintas fuentes. 40**
- Cuadro 6 Contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico en polisacáridos péctico extraídos de cáscara de tuna. Datos expresados en % peso/peso en base seca (Modificado de Reséndiz-Vega, 2010). 42**
- Cuadro 7 Condiciones cromatográficas para la determinación de distribución de masas moleculares en pectina extraída de la cáscara de tuna. 53**
- Cuadro 8 Análisis proximal de pectina obtenida de cáscara de tuna (Opuntia albicarpa Sheinvar). Se muestran datos promedio (n=3) + su desviación estándar. 61**
- Cuadro 9 Contenido de grupos acetilo en pectinas de distintas fuentes. 63**
- Cuadro 10 Distribución de masas moleculares en pectinas extraídas de cáscara de Opuntia albicarpa Sheinvar. 64**
- Cuadro 11 Viscosidad intrínseca $[\eta]$, constante de Huggins (k') y constante de Kraemer (k'') determinadas en distintos polisacáridos pécticos. 72**
- Cuadro 12 Densidades de soluciones acuosas de polisacárido sin clarificar extraído de cáscara de tuna (PPTSC). Determinaciones realizadas a 20°C en el año 2010. 74**
- Cuadro 13 Densidades de soluciones acuosas de polisacárido extraído de cáscara de tuna clarificado PPTC. Determinaciones realizadas a 20 °C en el 2011. 75**
- Cuadro 14 Valores de tensión superficial encontrados con otros biopolímeros estabilizadores de emulsiones. 78**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura: 1 Estructura química de pectinas, con algunos grupos funcionales que pueden estar presentes en su estructura (Modificada de Ridley et al, 2001).	6
Figura: 2 Estructura química de ácido galacturónico sin acetilar y con un grupo acetilo en la posición O2 (Melton y Smith, 2001).....	7
Figura: 3 Modelo de caja de huevo que representa el mecanismo de gelificación para pectinas de bajo grado de metoxilación (Said et al., 2023).	10
Figura: 4 Usos alimentarios de pectinas, (CP Kelco, 2005; Citado en Brejnholt, 2010).	11
Figura: 5 Estimación de la viscosidad intrínseca, símbolos de datos experimentales y líneas calculadas a partir de las ecuaciones de Huggins (línea superior) y Kraemer (línea inferior) (Lapasin & Pricl, 1995).....	19
Figura: 6 Tipos de emulsión (Modificado de Alade et al., 2021).....	25
Figura: 7 Tensión superficial (γ) en función de la concentración del tensioactivo; emulsión en ausencia de polímero (línea verde), mezcla que incluye polímero (línea roja). CMC=Concentración micelar crítica, CAC=Concentración de agregación crítica.(Modificado de Saffarionpour, 2019).....	30
Figura: 8 Inestabilización de emulsiones (Bouyer et al., 2012).....	32
Figura: 9 Esquema de las medidas de retro-difusión y energía transmitida de una emulsión, utilizando el dispersor de luz Turbiscan® (Formulation, Francia).....	33
Figura: 10 Modelo hipotético de estabilización de emulsiones por parte de la pectina (Leroux et al., 2003).	36
Figura: 11 Tuna blanca (<i>Opuntia albicarpa</i> Sheinvar) variedad Alfajayucan.....	48
Figura: 12 Dispositivo de extracción de polisacáridos pécticos, compuesto de un tanque encaquetado de vidrio, un agitador Lighnin® con control de velocidad y monitoreo de temperatura.....	49
Figura: 13 Densímetro digital modelo DMA-38 marca Anton Paar.	57
Figura: 14 Tensiómetro de gota colgante Sinterface PAT1.	58
Figura: 15 Integración del aceite a la solución acuosa de Pectina de Tuna (1%, p/v) para formar la emulsión.	59
Figura: 16 Turbiscan® marca MA2000.	60
Figura: 17 Distribución de masas moleculares en el polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna, realizada en HPLC-SEC.	65
Figura: 18 Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de pectina comercial de manzana (Fluka, grado de esterificación (DE): 70-75 %), pectina cítrica (Sigma-Aldrich, P9436, DE:55-70%), pectina cítrica grado alimentario (CP Kelco, DE: 9%) y pectina extraída de cáscara de tuna (PT).....	67
Figura: 19 Viscosidad (η) de soluciones de polisacárido extraído de cáscara de tuna (PT), disueltas en NaCl 0.3 M. Determinaciones realizadas a 25 °C en geometría de cilindros concéntricos de doble pared.....	69
Figura: 20 Determinación de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de soluciones de polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna a 25 °C. Se muestran los resultados de los parámetros de las ecuaciones de Kraemer (\circ) y Huggins (\bullet).....	70
Figura: 21 Esquema hipotético de la formación y estabilización de un sistema de emulsión agua-aceite estabilizadas con pectina de tuna. La presencia de restos proteicos y unidades ferúlicas unidas covalentemente al esqueleto de pectina puede adsorberse en la interfaz aceite-agua. El valor alto de Mw de las pectinas permite estabilizar la emulsión aumentando la viscosidad de la fase continua (Modificado de Assifaoui et al., 2024).	77

Figura: 22 Comportamiento de la tensión superficial (γ) de solución acuosa de pectina extraída de cáscara de tuna sin clarificar desde 0.4% al 1.0 %. Determinaciones realizadas a 25 °C.....	79
Figura: 23 Representación esquemática de la adsorción (figura superior) y representación esquemática de la tensión dinámica(figura inferior) en la interfase respecto al tiempo (Norde, 2003; Beverung et al., 1999).....	81
Figura: 24 Comportamiento de los valores de tensión superficial (γ) de soluciones acuosas de polisacárido péctico de tuna con respecto a la concentración. Los símbolos azules corresponden al polisacárido clarificado y los símbolos rojos al polisacárido sin clarificar. Determinaciones realizadas a 25°C.	83
Figura: 25 Barrido de transmisión y retrodispersión de la luz en la emulsión elaborada 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite de cártamo, Oleico®, México), mediciones realizadas a 25°C.	85
Figura: 26 Barrido de transmisión y retrodispersión de luz en la muestra de emulsión elaborada con PPTC refrigerada después de 28 horas la emulsión se elaboró con 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite cártamo, Oleico®, México).	86
Figura: 27 Propiedades viscoelásticas de la emulsión con 1 %. Las determinaciones fueron realizadas a 25 °C.....	88

NOMENCLATURA

AOAC	Asociación Oficial de Química	
ASTM	Sociedad Americana para Pruebas y Materiales	
b.h	Base húmeda	
b.s.	Base seca	
°C	Grados centígrados	
C	Constante	
EDTA	Ácido etilen-diamino-tetracético	
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación	
g	Gramos	
g/L	Gramos por litro	
G	Energía libre	
G'	Módulo de almacenamiento	Pa
G''	Módulo de pérdida	Pa
k'	Constante de Huggins	
k''	Constante de Kraemer	
kDa	Kilo Daltones	
h	Horas	
L	Litros	
µm	Micrómetro	
µL	Microlitros	
M	Molaridad	moles/L
NaCl	Cloruro de sodio	
NaOH	Hidróxido de sodio	
n	Índice de flujo	
nm	Nanómetros	
O/W	Aceite en agua	
pH	Potencial de Hidrógeno	
Pa	Pascales	
p/p	Peso sobre peso	
rad/s	Radianes por segundo	
®	Registrado	
s	Segundo	
v/v	Volumen sobre volumen	

SÍMBOLOS GRIEGOS

		Unidades
α	Alfa	(-)
$[\eta]$	Viscosidad intrínseca	(mL/g)
η_{sp}	Viscosidad específica	(-)
η_r	Viscosidad relativa	(-)
η	Viscosidad	(Pa·s)
σ	Esfuerzo	(Pa)
γ	Tensión superficial	(N/m)
ω	Frecuencia	(rad/s)

RESUMEN

Las pectinas son polisacáridos de origen vegetal, su uso en la industria de los alimentos es muy variado y depende en gran medida del grado de esterificación. La principal fuente del polisacárido son los cítricos, sin embargo, se ha reportado que es posible obtener polisacáridos pécticos a partir de desechos agroindustriales como la cáscara de tuna. A pesar de que las pectinas son usadas principalmente como agentes gelificantes, nuevos estudios se han enfocado en su potencial uso como emulsificantes. Actualmente se reconoce la actividad emulsificante de la pectina de remolacha, la cual se asume se debe a trazas de proteína y ácido ferúlico en su estructura. Esta pectina con actividad emulgente es la única disponible comercialmente, por lo que se considera necesario explorar nuevas fuentes de pectinas con actividad emulsificante para su uso en la industria de los alimentos. Por lo tanto, en el presente trabajo se aborda la evaluación de las propiedades de superficie de la pectina extraída de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa*). Se realizó un proceso de extracción en medio acuoso para obtener polisacáridos pécticos sensibles al calcio. El polisacárido obtenido se clarificó y dializó (corte molecular 14 kDa) para eliminar el material no soluble en agua y sales remanentes de la extracción. El polisacárido péctico clarificado (PT) fue analizado por espectroscopia de infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) para identificar los principales grupos funcionales de pectinas. Se cuantificó también el contenido de grupos acetilo, el grado de esterificación, distribución de masas moleculares (LC-SEC), viscosidad intrínseca, y tensión superficial dinámica a distintas concentraciones de PT.

El análisis químico mostró que PT contiene $0.92 \pm 0.03\%$ de proteína, $0.87 \pm 0.26\%$ de cenizas, 0.74% de grupos acetilo y un grado de esterificación del 18.33% . PT presentó 5 fracciones macromoleculares: $12.60 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ (41.18%), $5.08 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ (32.65%), $6.60 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ (15.94%), $4.19 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ (5.91%) y $9.80 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ (4.29%). El análisis de FTIR confirmó que PT tiene una estructura

de pectina con bajo grado de esterificación. El valor de la viscosidad intrínseca de PT fue de 131.74 mL/g; sin embargo, los valores de las constantes de Huggins ($k'=37.37$) y Kraemer ($k''=20.28$) fueron elevados, lo cual indica la formación de agregados de alto peso molecular por lo que es necesario ajustar la carga iónica del soluto con la finalidad de neutralizar las cargas de la molécula de PT. Este estudio deberá de mejorarse en futuros trabajos. Por otra parte, las pruebas de adsorción en interfase fluida mostraron que los valores de la tensión superficial (γ) disminuyen a medida que se incrementa la concentración de PT, el valor más bajo de γ se obtuvo con PT al 1% (i.e. 32.2 mN/m en $t = 3300$ s), con este resultado es posible afirmar que PT puede funcionar como agente tensioactivo. La evaluación de γ al equilibrio en función de la concentración de PT mostró que la concentración crítica de adsorción de PT se encuentra entre 0.018 y 0.08%. Sin embargo, las emulsiones aceite (30%) en agua (70%) con esas concentraciones de PT, no fueron estables. Por lo tanto, se incrementó la concentración de PT al 1% (p/v) para evaluar la estabilidad de una emulsión con 30% de aceite de canola y 70% de solución acuosa de PT al 1% (p/v). La estabilidad de la emulsión se analizó en un equipo de transmisión-retrodispersión de luz (Turbiscan MA 2000). A las 28 horas, la emulsión no mostró algún fenómeno de desestabilización, fue hasta las 151 horas que se inició la coalescencia de las gotas de aceite. Por lo tanto, PT puede estabilizar emulsiones O/W.

ABSTRACT

Pectins are polysaccharides of plant origin. Their use in the food industry is diverse and depends on the degree of esterification. The primary source of the polysaccharide is citrus fruits; however, it has been reported that it is possible to obtain pectic polysaccharides from agroindustrial waste, such as prickly pear peel. Although pectins are mainly used as gelling agents, new studies have focused on their potential use as emulsifiers. The emulsifying activity of beet pectin is recognized, which is assumed to be due to traces of protein and ferulic acid in its structure. This pectin is the only commercially available, so it is necessary to explore new sources of pectins with emulsifying activity for use in the food industry. Therefore, in the present work, the evaluation of the surface properties of pectin extracted from prickly pear (*Opuntia albicarpa*) peel is addressed. An extraction process was carried out in an aqueous medium to obtain calcium-sensitive pectic polysaccharides. The polysaccharide obtained was clarified and dialyzed (14 kDa molecular cut-off) to eliminate water-insoluble material and salts remaining from the extraction. The clarified pectic polysaccharide (PT) was analyzed by Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy to identify the main functional groups of pectins. The content of acetyl groups, the degree of esterification, molecular mass distribution (LC-SEC), intrinsic viscosity, and dynamic surface tension at different PT concentrations were also quantified.

Chemical analysis showed that PT contains 0.92±0.03% protein, 0.87±0.26% ash, 0.74% acetyl groups and a degree of esterification of 18.33%. PT presented 5 macromolecular fractions with molar mass (g mol^{-1}): 12.60×10^5 (41.18%), 5.08×10^5 (32.65%), 6.60×10^3 (15.94%), 4.19×10^5 (5.91%) and 9.80×10^5 (4.29%). FTIR analysis confirmed that PT has a pectic structure with a low degree of esterification. The intrinsic viscosity value of PT was 131.74 mL/g; However, the values of the Huggins constants ($k'=37.37$) and Kraemer ($k''=20.28$) were high, which indicates the formation of high molecular weight aggregates, so it is necessary to adjust the ionic charge of the solute to neutralize the charges of the PT molecule. On the other hand, the fluid interface adsorption tests showed that the surface tension (γ) values

decrease as the PT concentration increases. The lowest value of γ was obtained with 1% PT (i.e. 32.2 mN/ m at $t = 3300$ s); with this result, it is possible to affirm that PT shows emulsifying properties. The evaluation of γ at equilibrium as a function of PT concentration showed that the critical adsorption concentration of PT was between 0.018 and 0.08%. However, the oil (30%) in water (70%) emulsions with these PT concentrations were unstable. Therefore, the concentration of PT was increased to 1% to evaluate the stability of an emulsion with 30% canola oil and 70% aqueous solution of 1% PT. The stability of the emulsion was analyzed in light transmission-backscattering equipment (Turbiscan MA 2000). At 28 hours, the emulsion did not show any destabilization phenomenon; it was not until 151 hours that the coalescence of the oil droplets began. Therefore, PT can stabilize O/W emulsions.

1. Introducción

Las pectinas se encuentran en abundancia en la naturaleza y son usadas como aditivos en una gran diversidad de sistemas alimentarios. La fuente de extracción de este polímero no es lo único que determina su composición química, también influyen otros factores como el método de extracción y clarificación. De forma general las pectinas se clasifican como pectinas de alto y bajo metoxilo. Dependiendo del grado de esterificación será la aplicación de éstas, las pectinas de alto metoxilo se usan como viscosificantes y para gelificar requieren bajo pH y altas concentraciones de sólidos solubles, principalmente azúcares. Por otra parte, las pectinas de bajo metoxilo son usadas como agentes gelificantes en presencia de calcio, ya que necesitan de la presencia de cationes para formar geles. Las propiedades reológicas de los geles de pectina no sólo dependen del grado de metoxilación, también dependen de la distribución de los grupos metoxilo en la cadena de ácido galacturónico, de la concentración del polisacárido, del peso molecular, entre otros factores (Baississe et al., 2018).

Las pectinas también tienen la función de estabilizar emulsiones alimentarias, por su capacidad viscosificante y por las propiedades de superficie que se le atribuyen a la molécula. Algunos autores mencionan que las pectinas tienen cierta fracción proteica en su estructura lo cual causa que la hidrofobicidad de la molécula aumente. Se han realizado distintos estudios a la pectina de remolacha azucarera, que es la que ha presentado mayor capacidad emulsificante, sin embargo, aún no queda clara la razón por la que estabiliza emulsiones, como posibles hipótesis se cita el contenido de grupos acetilo en su estructura (Endreß & Christensen, 2009; Karnik, Jung, Hawking, & Wicker, 2016; Leroux, Langendorff, Schick, Vaishnav, & Mazoyer, 2003; Long Bai, 2017), fragmentos de proteína en las cadenas de pectinas, los cuales permanecen en su estructura después del proceso de extracción, grupos éster, ácido ferúlico, entre otros (Alba & Kontogiorgos, 2017). El origen de estas propiedades de superficie encontradas en algunas pectinas, dentro de las cuales destaca la pectina de remolacha azucarera, debe de ser estudiado

con mayor profundidad, ya que aún no es contundente la relación estructura-funcionalidad.

Las fuentes a partir de las cuales se extraen pectinas son diversas. Actualmente es creciente el número de investigaciones que buscan fuentes no convencionales de pectinas, principalmente a partir de desechos agroindustriales (cacao, girasol, remolacha, uva, cactáceas, entre otros). Estudios previos al presente trabajo reportaron la extracción de polisacáridos pécticos de cáscara de frutos de *Opuntia* (Forni, Penci, & Polesello, 1994; Habibi, Heyraud, Mahrouz, & Vignon, 2004; Lira-Ortiz, 2009; Lira-Ortiz, 2016; Lira-Ortiz et al., 2014; Lozada-Carbajal, 2007; Majdoub, Roudesli, & Deratani, 2001; Reséndiz-Vega, 2010). En particular, el polisacárido péctico obtenido de la tuna blanca (*Opuntia albicarpa*) variedad Alfajayucan, presentó un contenido importante de ácido galacturónico (61.24%) y 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 espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) confirmaron la presencia de un polímero con los grupos funcionales típicos de pectinas y un grado de metoxilación cercano al 30%. Las propiedades reológicas al flujo demostraron que las dispersiones acuosas (0.5, 1 y 2%, p/p) del polisacárido obtenido de la cáscara de tuna presentan comportamiento pseudoplástico con índices de flujo entre 0.92 y 0.6 (Lira-Ortiz et al., 2014).

En 2010, Reséndiz-Vega estandarizó un proceso de clarificación del polisacárido péctico de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar), el cual generó un polímero formado por 3 fracciones con masas de 1556, 997, 600 kDa, que correspondieron al 42, 34 y 22%, respectivamente del polímero. Los análisis de FTIR confirmaron la naturaleza péctica del polisacárido. Esta pectina gelificó en presencia de iones calcio, dando lugar a geles elásticos y suaves (Reséndiz-Vega, 2010). En ese trabajo se reportó un contenido importante de proteína y grupos acetilos en el polisacárido péctico, lo cual sugiere que la pectina de tuna podría presentar propiedades de superficie, lo que le daría un mayor valor agregado ya que podría ser capaz de competir con otros hidrocoloides con propiedades emulsificantes como la goma arábica, pectina de remolacha azucarera, derivados

de celulosa y almidones modificados. Por lo tanto, en el presente trabajo se aborda la evaluación de las propiedades de superficie de la pectina extraída de cáscara de tuna cultivar Alfajayucan (*Opuntia albicarpa* Sheinvar).

2. Antecedentes

2.1 Estructura química de las pectinas

Las pectinas son heteropolisacáridos con al menos 65% de α -(1 \rightarrow 4) ácido D-galacturónico como unidad estructural (Singhal et al., 2022; Sabater et al., 2022). Estas unidades pueden estar como ácidos libres, en forma de sales (de sodio, potasio, calcio, amonio), esterificadas de forma natural con metanol o como ácido amídico en pectinas amidadas (Figura 1). Además, azúcares neutros como L-ramnosa, D-galactosa, L-arabinosa, D-xilosa, D-arabinosa, etc., también forman parte de la cadena principal del polímero. Las unidades de L-ramnosa existen exclusivamente en uniones (1 \rightarrow 2) en la cadena principal (May, 2000). Las pectinas exhiben una estructura muy compleja, con bloques lineales de homo-poli-ácido galacturónico, llamadas regiones “lisas”, y bloques altamente ramificados llamadas regiones “pilosas” (Voragen, Coenen, Verhoef, & Schols, 2009).

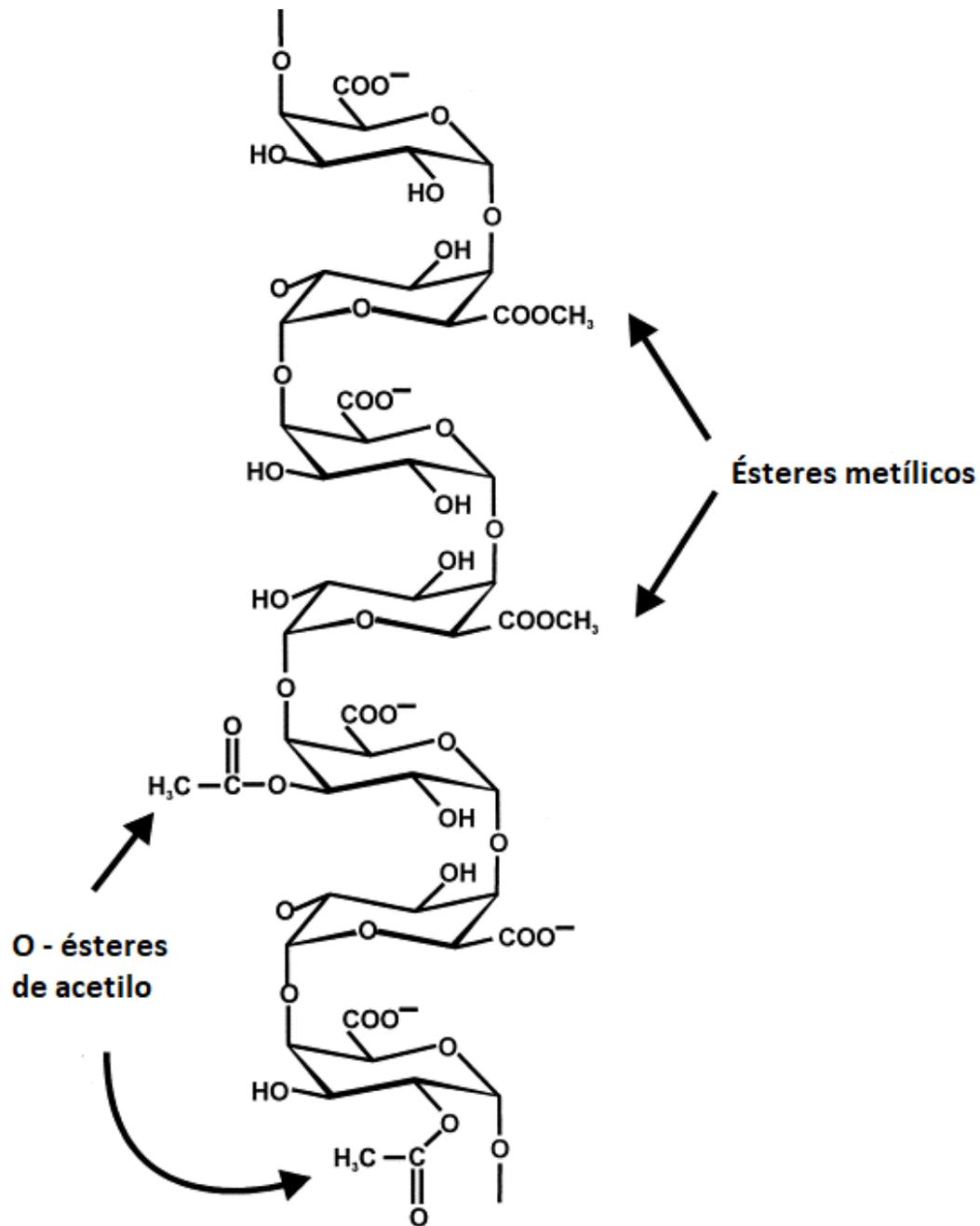


Figura 1 Estructura química de pectinas, con algunos grupos funcionales que pueden estar presentes en su estructura (Modificada de Ridley et al, 2001).

Las pectinas pueden diferir en el grado de esterificación de los grupos carboxilo del ácido galacturónico, en general éste se ubica en el rango entre 20 y 80% (Gawkowska et al., 2018). Las pectinas con más del 50% de esterificación son llamadas pectinas de alto metoxilo, mientras que las denominadas de bajo metoxilo

tienen menos del 50% de grupos esterificados. La masa molar de las pectinas depende de su fuente, principalmente del tipo de vegetal y de su estado de madurez; las pectinas con alto peso molecular se encuentran en cítricos, que además de la disponibilidad, es la razón por la que las pectinas comerciales se pueden extraer de estas fuentes (Chandel et al., 2022). Las pectinas de fuentes comerciales que se usan como agentes gelificantes tienen una masa molar cercana a 100,000 Da. Algunas pectinas, como las de remolacha azucarera, contienen también en su estructura grupos acetilo los cuales se ubican principalmente en los grupos hidroxilo de los carbonos 2 y 3 de las unidades de ácido galacturónico (Voragen et al., 2009) como se muestra en la Figura 2.

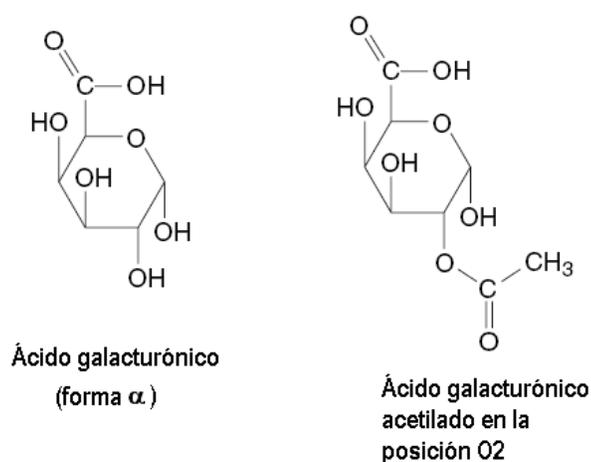


Figura 2 Estructura química de ácido galacturónico sin acetilar y con un grupo acetilo en la posición O2 (Melton y Smith, 2001).

2.2 Mecanismo de gelificación de las pectinas

La capacidad de formar geles (asociación de moléculas para formar una red tridimensional capaz de retener agua), es una de las propiedades funcionales de mayor interés de los polisacáridos, en donde la estructura de la macromolécula involucrada es la que define las características del gel. Así, si la estructura es uniforme, existe la posibilidad de formación de zonas de unión a lo largo de toda la molécula (gel rígido). Contrariamente, si la molécula posee irregularidades

estructurales, las zonas de unión podrán producirse entre distintas moléculas (unión puntual) que a su vez originan geles elásticos. Por otra parte, las moléculas cargadas negativamente (polielectrolitos, como alginatos y carragenanos) son capaces de originar por disociación la aparición de fuerzas de repulsión, por lo que la presencia de iones tiene un efecto importante en la formación del gel. Estas características estructurales determinan también la solubilidad, la cual es baja en moléculas lineales e incrementa en moléculas ramificadas y/o en función del grado de ionización (Said et al., 2023). Asimismo, el comportamiento del polisacárido en medio acuoso depende del tipo de conformación y del volumen hidrodinámico que adquiere la macromolécula. Durante el proceso de formación del gel se produce una transición (sol→gel elástico →gel rígido) que puede ser reversible en función de la capacidad de interacción polímero-polímero y polímero-disolvente (capacidad de solvatación) (Said et al., 2023).

Las pectinas son polisacáridos gelificantes, cuyos geles son más fuertes a medida que se incrementa la masa molar de la pectina (Willats, Knox, & Mikkelsen, 2006). Las pectinas de alto metoxilo forman geles en condiciones ácidas y en presencia de azúcar. Las pectinas de bajo metoxilo forman geles en un amplio rango de valores de pH y con bajas concentraciones de azúcar, pero requieren de la presencia de cationes, generalmente calcio. Se distinguen 2 mecanismos de gelificación de acuerdo con el grado de metil-esterificación de las pectinas (Willats et al., 2006).

a) Geles de pectinas de alto metoxilo

Para formar geles requieren condiciones de bajo pH (2.5 a 3.8) y baja actividad de agua. Un alto contenido de sólidos (55 a 85%) genera baja actividad de agua, por lo tanto, se favorecen las interacciones pectina-pectina, y los valores de pH bajo reducen la disociación de los grupos carboxilo, por lo que disminuyen las repulsiones electrostáticas (Gawkowska, Cybulska, & Zdunek, 2018). El mecanismo

de gelificación es debido a puentes de hidrógeno entre grupos carboxilo no disociados y grupos alcohol secundarios, al igual que interacciones hidrofóbicas entre grupos éster metilo (Williams et al., 2005 citado en Reséndiz Vega 2010).

Debido la importancia del grado de metil-esterificación en geles de pectina de alto metoxilo, hay varias presentaciones comerciales de este tipo de pectina, basadas en tiempo y temperatura de gelificación. La clasificación incluye gelificación ultra rápida, rápida, medio rápida, lenta y extra lenta, con rangos de esterificación de 74 – 77 % para ultra rápido y 58 – 60% para extra lento. Para bajos valores de pH, el tiempo de gelificación incrementa y disminuye la temperatura de gelificación (Chandel et al., 2022 citado en Reséndiz Vega 2010).

b) Geles de pectinas de bajo metoxilo

El mecanismo de gelificación de pectinas de bajo metoxilo involucra la presencia de cationes divalentes, usualmente calcio. El mecanismo se ilustra usando el modelo de “caja de huevo” mostrado en la Figura 3. De acuerdo con este modelo, las cadenas de pectina se doblan simétricamente formando una serie de espacios electronegativos en los cuales los cationes divalentes se disponen de acuerdo con su afinidad (Gawkowska et al., 2018 citado en Reséndiz Vega 2010). De esta manera, los cationes forman dímeros de cadenas de ácido poligalacturónico por interacciones iónicas con los ácidos carboxílicos libres de la cadena de pectina (Riyamol et al., 2023).

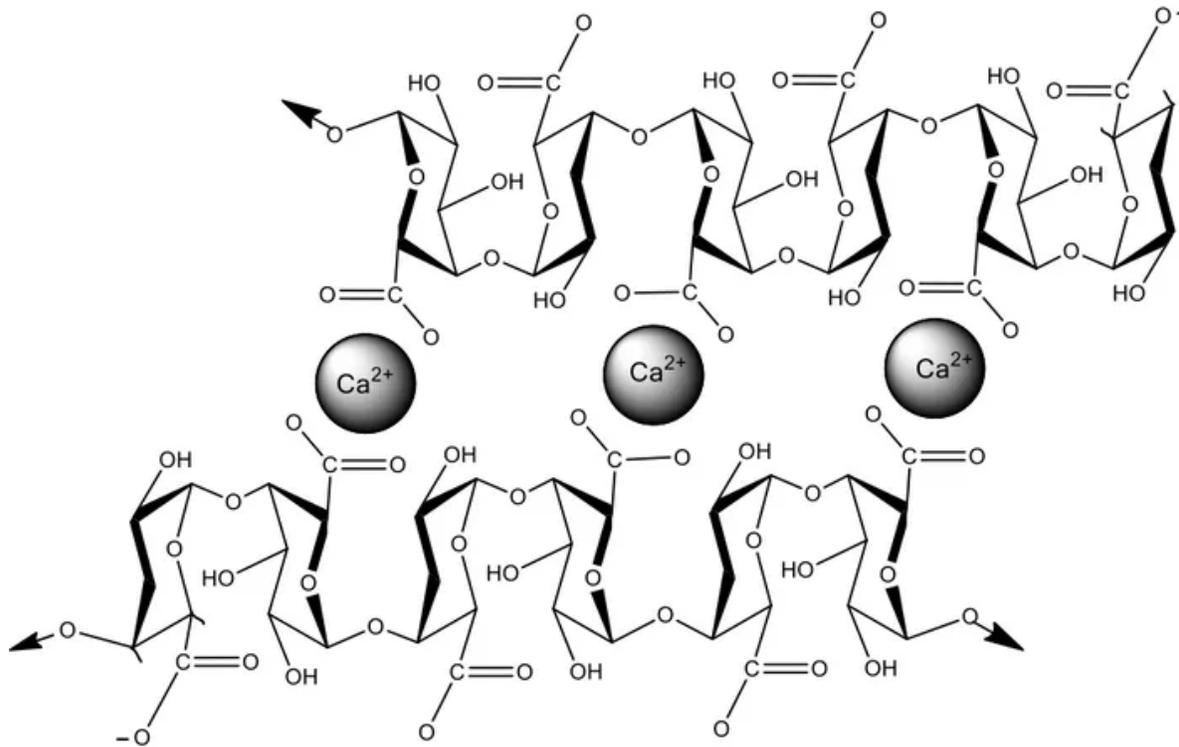


Figura 3 Modelo de caja de huevo que representa el mecanismo de gelificación para pectinas de bajo grado de metoxilación (Said et al., 2023).

2.3 Usos de pectinas

La pectina tiene una diversidad de usos dentro de la industria de alimentos, entre ellas está la de gelificar y estabilizar las matrices alimentarias; es capaz de estabilizar proteínas lácteas en condiciones de acidez, aunque en recientes años, la pectina también es usada en la producción de una gran variedad de productos como son: productos para cuidado personal, alimentos dietéticos, etc. (Figura 4).

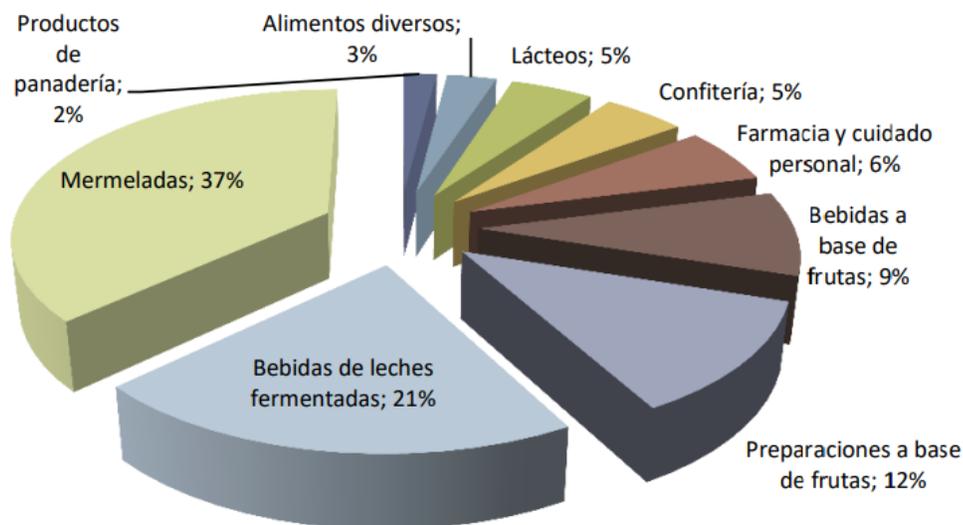


Figura 4 Usos alimentarios de pectinas, (CP Kelco, 2005; Citado en Brejnholt, 2010).

2.4 Fuentes de pectinas

Las pectinas constituyen un grupo heterogéneo de polisacáridos, son los componentes más solubles de los polisacáridos de la pared celular vegetal y pueden ser extraídas con agua caliente o con quelatos de calcio. Están presentes en las frutas en cantidades y calidades variables. A pesar de la incidencia de la pectina en la naturaleza, sólo pocos materiales se utilizan como fuentes para la producción de pectina comercial. Los principales productores de pectina están ubicados en zonas productoras de cítricos en Europa y América Latina, donde las pectinas son obtenidas de cáscaras y residuos de la extracción de jugos de cítricos y de manzana (Roman-Benn et al., 2023). La extracción de pectina implica varias etapas, incluido el pretratamiento y la post-extracción de la materia prima (Nadar, Arora, & Shastri, 2022).

Para el proceso de extracción de pectina, se somete al extracto que la contiene a tratamientos con ácidos inorgánicos a elevada temperatura. En estas condiciones, los enlaces que unen las cadenas laterales de polisacáridos pécticos

con las paredes celulares se rompen por lo que se liberan las moléculas quedando en solución acuosa. En los siguientes pasos, el extracto que contiene la pectina se separa del material insoluble bruto, que contiene principalmente celulosa; siguiendo con la clarificación (eliminación de compuestos considerados como impurezas) y concentración (Nadar et al., 2022). La pectina es aislada por precipitación alcohólica. La mezcla alcohol-agua es separada de la pectina precipitada, luego se seca, se muele y se tamiza para obtener el tamaño de partícula definido (Roman-Benn et al., 2023).

En años recientes se han estudiado distintas fuentes como alternativa para la extracción de pectinas, algunas se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1 Fuentes a partir de las cuales se han aislado pectinas o polisacáridos pécticos (Modificado de Ovodov (2009).

Familia	Nombre científico	Nombre común	Características de polisacáridos extraídos
Fabaceae	<i>Lupinus albus L.</i>	Lupino blanco	Puede contener de 1.5 hasta 7% de sustancias pécticas, las variedades que ya contienen 7% se consideran como posible fuente industrial.
	<i>Lupinus mutabilis L.</i>	Lupino	Pectina con buena solubilidad en agua, geles estables (2%), masa molecular entre 100-400 kDa, alto grado de esterificación (65-85%).
	<i>Pisum sativum</i>	Chícharo	Se han aislado xilogalacturonanos, compuestos que se usan principalmente en medicina.
	<i>Glycine max L.</i>	Soya	Se obtienen 2 tipos de pectina; el primer tipo contiene en su cadena xilogalacturonanos, homogalacturonanos y ramnogalacturonanos II; el segundo grupo contiene ramnogalacturonanos I principalmente, con arabinanos, galactanos o arabinogalactanos contenidos en la cadena.
Curcubitaceae	<i>Curcubita pepo L.</i>	Calabaza	Extracción de pectina usando complejos enzimáticos. La pectina tiene buena solubilidad, gelifica a bajas concentraciones respecto a la pectina cítrica comercial.
Amaranthaceae	<i>Amaranthus L.</i>	Amaranto	Pectina con alto contenido de residuos de ácido D-galacturónico (más del 80%) y un alto porcentaje de esterificación (75%), aunque su uso se concentra principalmente en la industria farmacéutica.
	<i>Beta vulgaris L.</i>	Remolacha azucarera	La pectina de remolacha azucarera no es usada como estabilizadora de geles debido a su baja capacidad gelificante; sin embargo, se le han atribuido propiedades emulsificantes, se presume que es debido al alto contenido de restos de proteína y grupos acetilo.
Menispermaceae	<i>Cissampelos pareira L.</i>	Vid leñosa de Tailandia	Las hojas en solución acuosa forman geles, los cuales son usados como postre en Tailandia; estos geles son usados como fuente de pectina.
Rosaceae	<i>Prunus avium L.</i>	Cerezos	Polisacárido péctico rico en arabinosa, con una masa molecular de 762 kDa.
	<i>Pérsica vulgaris L.</i>	Duraznos	Contiene fracciones de sustancias pécticas.
	<i>Malus domestica</i>	Manzana	

<i>Asteraceae</i>	<i>Helianthus annuus</i> L.	Girasol	<p>El rendimiento de extracción (2~10%) de polisacáridos pécticos de estos frutos se ve afectado por la temperatura, pH y tiempo. El grado de esterificación en todos los casos va desde 72.1 hasta 95.4%.</p> <p>El rendimiento de extracción de pectina es mayor que para las pectinas comerciales (cítricos y manzana). Pectina con grado de esterificación (11%), residuos de ácido galacturónico (77%) y alrededor del 2.5% de grupos acetilo. En soluciones acuosas, esta pectina difícilmente viscosifica, pero forma geles comparables en rigidez con los geles de pectinas comerciales.</p>
<i>Iridaceae</i>	<i>Iris pseudacorus</i>	Lirio amarillo	Se aisló una fracción de polisacárido (pectina), el cual contiene 46.7% de ácido galacturónico, además de galactosa y arabinosa. Pectina soluble en agua y forma soluciones viscosas.
<i>Oleaceae</i>	<i>Olea europea</i> L.	Olivo	Se han extraído ciertas cantidades de polisacáridos pécticos, en la extracción se usan soluciones alcalinas diluidas, obteniendo un polisacárido con grandes cantidades de arabinosa.
<i>Apiaceae</i>	<i>Centella asiática</i> L.	Centella asiática	La pectina contiene ramnosa, arabinosa, galactosa, glucosa y ácido galacturónico. En las cadenas de pectina se puede encontrar principalmente ramnopiranosos unidos por enlaces 1,4. Estas cadenas contienen residuos de arabinosa y galactosa, o arabinosa en combinación con residuos de galactosa (arabinogalactanos).
<i>Cactaceae</i>	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Nopal	Una pectina de bajo metoxilo fue extraída del nopal en condiciones alcalinas y en presencia de un agente quelante; las características de la pectina fueron: 85.4% de ácido galacturónico, 7.0% de galactosa, 6.0% de arabinosa y en mínimas cantidades se encontró ramnosa y xilosa. Este polisacárido fue capaz de formar geles en presencia de iones calcio ^a
	<i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar "Reyna"	Tuna	En tuna se obtuvo una pectina por extracción acuosa en presencia de un agente quelante. La composición de la pectina fue: 65.4% de ácidos urónicos, 19.5% galactosa, 2.16% de ramnosa, 0.12% de arabinosa y 0.12% de glucosa, el grado de esterificación de acuerdo con un análisis por FTIR fue de 30.7% ^b

<i>Araliaceae</i>	<i>Panax ginseng</i> L.	Ginseng	Se han aislado una serie de polisacáridos pécticos que son usados en medicina principalmente; la estructura de la pectina de ginseng consiste principalmente de residuos de ácido galacturónico, ácido glucurónico, ramnosa, arabinosa y galactosa.
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago major</i> L.	Llantén	Se han encontrado 2 tipos de polisacáridos, arabinogalactanos y polisacáridos pécticos; ambos son usados en medicina.
<i>Sapotaceae</i>	<i>Argania spinosa</i> L.	Árbol de argan	De la pulpa del fruto se ha extraído homogalacturonanos y ramnogalacturonanos I y II.
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Spinaca oleraceae</i> L.	Espinaca	Pectina que contiene grupos acetilo y metoxilo en sus cadenas de galacturonanos y ramnogalacturonano I.
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> L. <i>Citrus reticulata</i> L. <i>Citrus limón</i> L.	Naranja Mandarina Limón	Las cáscaras de cítricos húmedas y secas se utilizan para la producción de pectina. La pectina de naranja puede ser extraída con un grado de esterificación de hasta 80%. La piel de naranja es especialmente rica en la enzima pectin-metil estearasa (May, 1990) y por lo tanto es más susceptible a la metil des-esterificación que la pectina extraída de lima y limón.

^a Cárdenas, Goycoolea, y Rinaudo (2008).

^b Lira-Ortiz et al., 2014

2.5 Propiedades reológicas de pectinas

La pectina es usada como ingrediente en distintos alimentos como jaleas, mermeladas, yogur, etc. Las características reológicas como la viscosidad o las propiedades viscoelásticas de los sistemas en los que la pectina es adicionada como ingrediente dependen principalmente de la fuente de pectina, de las propiedades extrínsecas (pH, fuerza iónica) y de la concentración de pectina. Las características de los geles que contienen pectina (principalmente de origen cítrico o de manzana) son ampliamente estudiadas debido a que se puede obtener un espectro amplio de propiedades reológicas, desde soluciones newtonianas y pseudoplásticas hasta geles elásticos (Li et al., 2022).

A) Geles

Los geles de pectina de alto metoxilo (>50%) se forman en presencia de más del 55% de azúcar y a $\text{pH} \leq 3.5$ mediante interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno. Los geles con pectinas de bajo metoxilo (<50%) se forman en presencia de iones calcio (Gawkowska et al., 2018). En particular, las propiedades reológicas de los geles de pectina de bajo metoxilo no dependen únicamente del grado de metoxilación, también dependen de la distribución de los grupos metoxilo en las cadenas de ácido galacturónico y de la concentración de iones calcio. Está bien documentado que los módulos viscoelásticos: módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G''), incrementan con la concentración de calcio en el medio (Fraeye et al., 2009). Frecuentemente, para caracterizar el comportamiento viscoelástico de geles de pectina de bajo metoxilo se usa la relación estequiométrica R , ($R = 2[\text{Ca}^{2+}]/[\text{COO}^-]$). En donde COO^- es la concentración molar de grupos carboxilos procedentes del ácido galacturónico y Ca^{2+} es la concentración molar de iones calcio presente en el medio. Las pectinas de bajo metoxilo forman geles con

bajas valores de R (i.e., $R \sim 0.05$) (Fraeye et al., 2009; Garnier, Axelos, & Thibault, 1993; Rivera-Hernández et al., 2023).

B) Soluciones

Las propiedades reológicas de las dispersiones de pectina también están fuertemente relacionadas con su naturaleza polielectrolítica. En condiciones en las que se tiene un alto grado de ionización de los grupos carboxilos (alrededor de pH neutro), las pectinas en solución muestran una conformación de cadenas al azar; mientras que en condiciones con bajo grado de ionización, el comportamiento reológico cambia drásticamente, de tal manera que las cadenas tienden a agregarse. Los iones en las soluciones de pectina generan interacciones electrostáticas entre los bloques de ácido galacturónico, dando lugar a una estructura de pectina más flexible, ésta es una característica de biopolímeros con comportamiento tipo cadenas en desorden u ovillos al azar “random coil” (Kontogiorgos, Margelou, Georgiadis, & Ritzoulis, 2012).

Cuando las disoluciones de biopolímeros se hacen más diluidas, las interacciones de las cadenas de polímeros se hacen menos importantes, en este tipo de régimen, las diferencias reológicas se deben esencialmente al volumen hidrodinámico de las macromoléculas, el cual está relacionado con la forma adoptada por las cadenas en disolución, su peso molecular y su radio de giro. La viscosidad intrínseca es una medición que se utiliza para cuantificar las dimensiones de la cadena de biopolímero (Gawkowska et al., 2018; Rao, 2014; Yoo, Fishman, Hotchkiss, & Lee, 2006).

La viscosidad intrínseca proporciona el volumen hidrodinámico que ocupa una cadena de biopolímero en el disolvente y se determina a partir de datos de viscosidad de disoluciones diluidas, como el límite cuando la concentración tiende a cero, de la relación concentración-viscosidad específica (Ec. 1), y tiene unidades

del inverso de la concentración, convencionalmente se utilizan las unidades de dL/g (Lapasin & Pricl, 1995; Rao, 2014; Sayah et al., 2016).

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} \quad Ec 1$$

Donde:

$[\eta]$ = Viscosidad intrínseca (dL/g)

η_{sp} = Viscosidad específica (adimensional)

C = Concentración del polímero (g/dL)

Cuando las disoluciones diluidas presentan un comportamiento de corte adelgazante, la viscosidad a corte cero (η_0), puede ser usada en lugar de la viscosidad newtoniana η . La $[\eta]$ puede ser estimada gráficamente por un procedimiento de doble extrapolación graficando $\frac{\eta_{sp}}{C}$ y $\ln \frac{\eta_r}{C}$ en función de C (Figura 5). El segundo procedimiento es de forma analítica e implica correlacionar los datos experimentales con los modelos de Huggins (Ec. 2) o Kraemer (Ec. 3),

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad Ec 2$$

$$\frac{\ln \eta_r}{C} = [\eta] + k''[\eta]^2 C \quad Ec 3$$

Donde:

$[\eta]$ = Viscosidad intrínseca (dL/g)

η_r = Viscosidad relativa (adimensional)

η_{sp} = Viscosidad específica (adimensional)

C = Concentración del polímero (g/dL)

k' = Constante de Huggins (-)

k'' = Constante de Kraemer (-)

Cuando se utiliza el modelo de Huggins, la variable independiente es C y la dependiente es $\frac{\eta_{sp}}{C}$, al realizar la regresión lineal, la ordenada al origen es $[\eta]$ y a partir del valor de la pendiente se obtiene el valor de la constante de Huggins (k'). Cuando se emplea el modelo de Kraemer la variable independiente es C y la variable dependiente $\frac{\ln \eta_r}{C}$ al realizar la regresión lineal la ordenada al origen es $[\eta]$ y con el valor de la pendiente se obtiene el valor de la constante de Kraemer k'' . Ambas constantes son adimensionales (Lapasin & Prici, 1995; M. A. Masuelli, 2011).

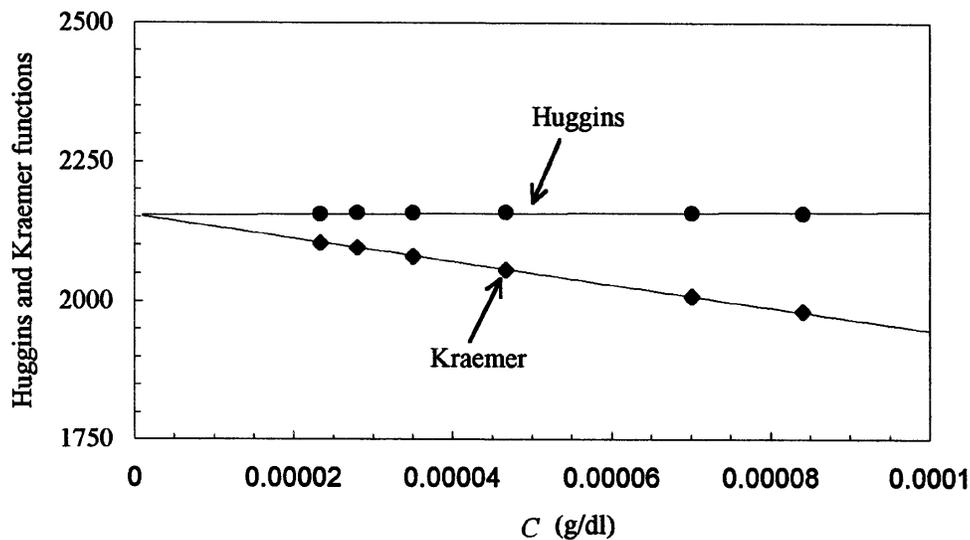


Figura 5 Estimación de la viscosidad intrínseca, símbolos de datos experimentales y líneas calculadas a partir de las ecuaciones de Huggins (línea superior) y Kraemer (línea inferior) (Lapasin & Prici, 1995).

En el caso de las pectinas, se ha encontrado que presentan carga electrostática en su estructura química y es necesario adicionar compuestos que modifiquen la carga iónica del medio (por ejemplo, NaCl). El aumento en la carga iónica del medio daría como resultado que la viscosidad intrínseca refleje el volumen hidrodinámico de las pectinas como moléculas individuales, en donde se ha disminuido la repulsión electrostática, pero sin la formación de agregados.

La viscosidad intrínseca de la pectina es muy dependiente de la masa molecular, M , ya que arrastra grandes volúmenes de solución, que aumentan cuando aumenta la longitud de la cadena. En estas condiciones se puede aplicar la ecuación de Mark-Houwink (Ec. 4):

$$[\eta] = (K \cdot M^\alpha) \quad \text{Ec 4}$$

K = se relaciona con la rigidez del esqueleto polimérico

α = es una constante que depende de la conformación de la molécula.

La ramificación de las cadenas tiene el efecto de reducir el tamaño hidrodinámico efectivo, y por tanto la viscosidad intrínseca medida. Los parámetros de Mark-Houwink dependen del sistema polímero-disolvente. Por ejemplo, valores del parámetro α cerca de 0.8 indican que el disolvente es adecuado. Aunque este parámetro está influenciado por la flexibilidad del polímero. Generalmente el parámetro α tiende a variar entre 0.5 y 0.8 para conformaciones de cadenas flexibles, mientras que varía entre 0.8 y 1.0 para moléculas rígidas. El parámetro K tiende a disminuir cuando lo hace el parámetro α (Lapasin & Pricl, 1995).

Como se puede observar en el Cuadro 2, el rango de valores de viscosidad intrínseca en algunas pectinas va desde 200 hasta 840 mL/g, dependiendo de la fuente. Se han reportado valores muy altos de viscosidad intrínseca para pectina de *Opuntia ficus indica* (840 mL/g) y pectina de cáscara de *Opuntia littoralis* (654 mL/g), se presume que estos valores reflejan que en la determinación experimental hubo formación de agregados macromoleculares (Majdoub et al., 2001) o la presencia de ramificaciones grandes en la estructura de la pectina. Los agregados moleculares pueden eliminarse ajustando la fuerza iónica de la solución (Yoo et al., 2006), ya sea con la presencia de sales y/o controlando el pH (Masuelli, 2018).

Cuadro 2 Datos de viscosidad intrínseca y parámetros macromoleculares de algunas pectinas de distintas fuentes.

Pectina	Condiciones experimentales	$[\eta]$ mL/g	M_w (Da)	k' (-)	k'' (-)	Método de determinación	Referencia
Pectina de <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.5 M 25 °C	820	NR	0.86	NR	Viscosímetro Contraves LS30	Majdoub et al., 2001
Pectina de girasol	NaCl 0.1 M 25 °C, pectina: 0.0035 - 0.012 g/L y 0.006 - 0.020 g/L	267.2	52,685	NR	NR	Reómetro de esfuerzos controlados, geometría de cilindros concéntricos ($\sigma=0.1$ Pa)	Lin et al., 1976 reportado por Iglesias y Lozano, 2004
Pectina de girasol	NaCl 0.1 M 25 °C, pectina: 0.0035 - 0.012 g/L y 0.006 - 0.020 g/L	248.9	47,818	NR	NR	Reómetro de esfuerzos controlados, geometría de cilindros concéntricos ($\sigma=0.1$ Pa)	Kim et al., 1978, reportado por Iglesias y Lozano, 2004
Pectina cítrica	LiCl 0.2 M NaCl 0.2 M 35 °C \pm 0.02 °C pectina: 0.00025 - 0.001g/mL	199 ^a 330 ^b	NR* 226 \times 10 ³	NR	NR	Viscosímetro capilar Ubbelohde	Yoo et al., 2006
Pectina de <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.2 M a 20 °C	199	NR	NR	NR	Viscosímetro capilar Ubbelohde	Cárdenas et al., 2008
Polisacárido péctico de cáscara <i>Opuntia littoralis</i>	NaCl 0.1 M 25 °C	654	NR	NR	NR	Viscosímetro Contraves LS30	Majdoub, Picton, Cerf, and Roudesli (2010)

Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar).

Polisacárido péptico de cáscara <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.1 M 25 °C	290	NR	NR	NR	Viscosímetro Contraves LS30	Majdoub et al., 2010
Pectina de Akebia trifoliata Var. Australis peel^a	Buffer de fosfato de sodio 0.1M 20 °C pH 7 Concentración de pectina: 1-10 kg/m ³	158 ± 2	45,353±698	NR	NR	Viscosímetro capilar Ubbelohde No. 13 (ID: 0.84 mm)	Jiang et al. (2012)
Pectina de Akebia trifoliata var. australis peel^b	Buffer de fosfato de sodio 0.1M 20 °C pH 7 Concentración de pectina: 1-10 kg/m ³	109 ±1	28,877±322	NR	NR	Viscosímetro capilar Ubbelohde No. 13 (ID: 0.84 mm)	Jiang et al., 2012
Pectina de Okra	NaCl 0.1 M 20 °C pH 7 Concentración de pectina: 0.01-10 g/dL	271	NR	0.49	NR	Viscosímetro capilar Ubbelohde	Kontogiorgos et al., 2012
Pectina de pulpa de calabaza <i>Curcubita maxima</i>	Ácido cítrico/citrato de sodio, 0.2 M pH 4	1086 ± 60	266,640 ± 20340	0.39 ± 0.04	-0.10 ± 0.03	Reómetro Anton Paar, usando geometría de cilindros concéntricos	Baississe et al., 2018.
Pectina de pulpa de calabaza <i>Curcubita maxima</i>	Buffer ácido cítrico/citrato de sodio, 0.2 M pH 7	958 ± 50	239,110 ± 11840	0.27 ± 0.002	0.91 ± 0.02	Reómetro Anton Paar, geometría de cilindros concéntricos	Baississe et al., 2018.
Pectina de pulpa de calabaza <i>Curcubita maxima</i>	Buffer ácido cítrico/citrato de sodio 0.2 M, 20 °C.	406 ± 97	171,250 ± 39260	0.11 ± 0.10	NR	Reómetro Anton Para, geometría de cilindros concéntricos	Salima et al 2022.

M_w: masa molecular, [η]: viscosidad intrínseca; k': constante de Huggins; k'': constante de Kraemer; NR: No reportada.

^a Extracción con ácido clorhídrico

^b Extracción con ácido cítrico

2.6 Emulsiones

Una emulsión se define como una dispersión coloidal constituida por dos líquidos inmiscibles (agua/aceite) que se mezclan en forma de pequeñas gotas de uno en el otro (Barnes y Gentle, 2005), estabilizados por un tensioactivo (emulsificante). Del emulsificante dependen las propiedades de la emulsión. La capacidad emulsionante de una sustancia anfifílica (tensoactiva) se suele medir en términos del tamaño de gota de la emulsión formada, siendo mayor la cantidad emulsionante de una molécula cuanto es menor el tamaño de las gotas que forman la emulsión (Chen, Ao, Ge & Shen, 2020).

En el seno de un líquido existen fuerzas atractivas entre las moléculas que previenen que migren al estado vapor. Sin embargo, las moléculas en la superficie al no estar completamente rodeadas por otras moléculas de líquido, están sujetas a una fuerza atractiva que las dirige hacia el seno del líquido. Entre más pequeña la superficie, menor es esta energía (Ozturk & McClements, 2016). Dado que la condición de mínima superficie conduce a una menor energía, la superficie del líquido tiende a contraerse. La tensión superficial (γ) de un líquido (Ec.5) se define como el trabajo necesario (W) para incrementar su superficie (Δd) por unidad de área (Aveyard, 2019).

$$\gamma = \frac{W\Delta d}{2} \quad Ec\ 5$$

Las unidades de tensión superficial en el Sistema Internacional de unidades son N/m.

2.6.1 Formación y estabilización de emulsiones alimentarias

Por definición, en tecnología de alimentos, un agente emulsificante es aquella sustancia que añadida a los alimentos hace posible la formación y/o mantenimiento de una dispersión uniforme entre 2 o más sustancias inmiscibles (Alara et al., 2023).

Las sustancias con actividad emulsificante presentan una estructura dipolar, donde se distingue la parte hidrófila (afín al agua) formada por grupos disociables o grupos hidroxilo y otra lipófila (afín a aceites y grasas) de cadena alquílica. El carácter dipolar de una molécula es lo que se valora, por sus capacidades tecnológicas, en la industria alimentaria (Chen et al., 2020).

Los principales usos y aplicaciones de los agentes emulsificantes son (Alara et al., 2023):

- Formadores y estabilizadores de emulsiones por su capacidad reductora de la tensión superficial entre las dos fases inmiscibles.
- Creadores y estabilizadores de espumas.

Otras aplicaciones:

- Agentes texturizantes, modificadores de la textura del producto donde se apliquen.
- Modificadores de la funcionalidad de las proteínas y los almidones.
- Mejoradores de la masa panaria.
- Dispersantes de sólidos en polvo.

En el campo de los alimentos las dispersiones que tienen una mayor importancia son las emulsiones, de las que se pueden encontrar dos tipos (Figura 6):

- Emulsiones agua en aceite (W/O): formadas por una fase dispersa de agua, o líquidos miscibles en ella, y una fase continua grasa (ejemplo: mantequilla, margarina, algunas mayonesas industriales, etc.).
- Emulsiones aceite en agua (O/W): Formadas por una fase dispersa grasa y la fase continua acuosa (ejemplo: leche, nata líquida, mayonesa casera, etc.).

Debido al carácter no miscible de las dos fases que forman una emulsión o dispersión (Cuadro 3), se puede deducir que es un sistema inestable. Para llegar a formar la emulsión se ha de aportar energía al sistema, de manera que se aumente

la superficie de contacto entre las dos fases y se pueda formar la zona de interfase donde se sitúa el emulsificante. La energía a aportar al sistema depende de muchos factores, entre ellos se encuentran: la tensión superficial entre las dos fases, diferencia de densidad entre las fases, tipo de agitador, viscosidad de la fase continua, etc. Con el tiempo el sistema tiene tendencia a volver a su forma estable. Por eso el problema no sólo es crear la emulsión, sino mantenerla a lo largo del tiempo (Alara et al., 2023).

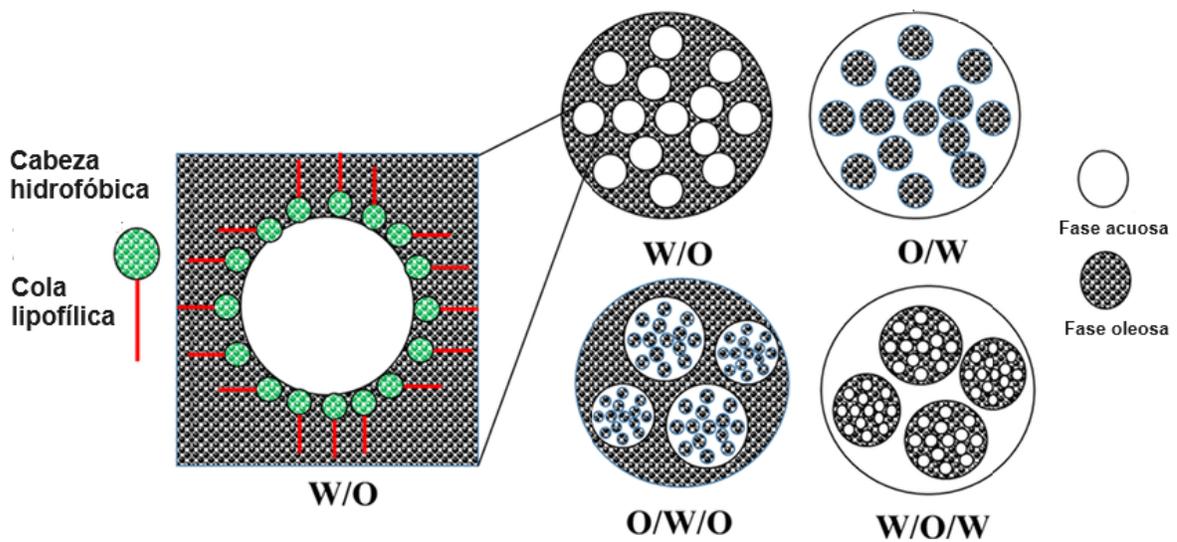


Figura 6 Tipos de emulsión (Modificado de Alade et al., 2021).

Cuadro 3 Características de las emulsiones (Dalglish, 2006).

Emulsión	Dispersión mecánica de una fase líquida en otra y estabilización del sistema contra la coalescencia con emulsionantes y sustancias sólidas dispersas y macromoléculas, que sean adsorbidas en la interfase.
Tipos de emulsión	Emulsión Aceite/Agua: Emulsión aceite en agua: líquido orgánico dispersado en agua Emulsión Agua/Aceite: Emulsión agua-en-aceite: agua dispersada en un líquido orgánico. Emulsión doble Agua/Aceite/Agua: Emulsión agua-en-aceite emulsionada de nuevo en agua. Emulsión doble Aceite/Agua/Aceite: Emulsión aceite-en-agua emulsionada de nuevo en líquido orgánico.
Emulsionantes	El valor HLB da una orientación práctica del tipo de emulsionante: <ul style="list-style-type: none"> • Valor HLB: 3-6 para emulsiones Agua/Aceite. • Valor HLB: 8-13 para emulsiones Aceite/Agua. Los emulsionantes son absorbidos en la superficie de separación y reducen la tensión superficial.
Tamaño de partículas	Emulsiones gruesas: 1-5 μm . Ultraemulsiones: 10-50 nm estables ante fenómenos de segregación.
Factores de estabilización contra agentes agregantes	Baja tensión superficial. Películas de separación con rigidez mecánica. Repulsión electrostática. Fracción volumétrica ϕ_B favorable. Pequeño tamaño de las partículas. Alta viscosidad del medio dispersante.
Estabilización ante la segregación.	Poco grosor de las partículas, por homogeneización. Bajar diferencia de densidad a temperatura óptima. Alta viscosidad del medio dispersante.
Deterioro de la emulsión.	Acción mecánica Adición de emulsionantes de tipo contrario. Adición de campos eléctricos. Aditivos que impidan la estabilización. Elevación de la temperatura.
Fracción volumétrica ϕ_B de la fase dispersa.	Emulsiones diluidas: $\phi_B \leq 0.001$ Emulsiones concentradas: $0.001 \leq \phi_B \leq 0.74$ Emulsiones ultraconcentradas: $0.74 \leq \phi_B \leq 0.999$.
Propiedades	Emulsión Aceite/Agua: <ul style="list-style-type: none"> • Textura cremosa. • Diluible con agua • Alta conductividad eléctrica Emulsión Agua/Aceite: <ul style="list-style-type: none"> • Textura grasa. • Diluible en medios orgánicos. • Baja conductividad eléctrica.

Los emulsificantes permiten la formación de una emulsión por su efecto en la reducción de la tensión superficial. La tensión superficial es la fuerza que hay que vencer sobre la superficie de un líquido para poder adentrarse en él. El líquido tiende a que la superficie donde se establezca la tensión superficial sea mínima, ya que el estado ideal de todo sistema es aquel en el que tenga menos energía libre (Cubero et al., 2002). En el caso de un sistema formado por dos fluidos inmiscibles, en la zona de interfase líquido-líquido se establece la tensión de interfase. Y como en el caso anterior, es más estable el estado que permita una tensión de interfase mínima, que se da cuando los dos fluidos se encuentran separados en dos fases y no en estado emulsificado. Para poder formar la emulsión es necesario aplicar una fuerza capaz de vencer la tensión de interfase y que permita la dispersión de uno de los dos fluidos en el otro. Los emulsificantes ayudan en el proceso de emulsificación, ya que tienen la capacidad de disminuir la tensión de interfase, y por lo tanto disminuir el trabajo necesario para emulsificar dos fluidos. La fuerza que se proporciona al sistema es mediante un trabajo mecánico proporcionado por un batido, homogenización, etc. De esta manera se consigue una división en partículas de una de las fases, que queda distribuida dentro de la otra. Una emulsión no es el estado ideal de un sistema bifásico inmiscible, por lo tanto, existe una tendencia de reorganización hacia el estado inicial (Costa et al., 2019; Cubero, Monferrer, & Villalta, 2002).

Cuando dos fases homogéneas se encuentran en contacto, existen regiones de espesor finito donde las propiedades cambian considerablemente al pasar de una fase a otra. Estas regiones son conocidas como superficies o interfases (aunque la mejor descripción es interfase). Cuando se habla de fenómenos a nivel molecular, el espesor de la región de la interfase es significativo y definitivamente no es cero. Las propiedades de la región de la interfase son importantes cuando una de las fases se dispersa en muchas partículas muy pequeñas en la otra fase, debido al dramático incremento del área superficial. A estas fases se les conoce como fase dispersa y fase continua, algunos ejemplos son: coloides, emulsiones, y aerosoles; a menudo el tamaño de las partículas o gotas de la fase dispersa están

por debajo del límite de resolución del microscopio óptico ($< 0.5 \mu\text{m}$), pero superior al rango de tamaño molecular (Cubero et al., 2002).

Para cualquier sistema en equilibrio, la energía libre es mínima. Si el sistema contiene una interfase, es razonable esperar que la interfaz pudiera contribuir con la energía libre (G), y esta contribución podría ser fijada en función del área A . Se podría esperar que la contribución adoptara la forma:

$$G = \gamma A + \text{otros términos} \quad \text{Ec 6}$$

En la Ecuación 6, el coeficiente γ se conoce como tensión superficial o tensión en la interfase. Si el sistema es estable, se deduce que γ debe ser positivo; si fuera negativo, un aumento en el área de contacto daría lugar a la disminución de la energía libre, y por lo tanto la superficie se ampliaría de forma espontánea. Esto ocurre cuando se disuelve una sustancia en otra. De hecho, ocurre lo contrario para los líquidos inmiscibles, lo que sugiere que para que una interfase sea estable, γ debe ser positivo y que, en el equilibrio, el área en la interfase tenderá al mínimo con la finalidad de minimizar la energía libre. La Ecuación 6 también indica que los procesos que reducen el valor de la tensión en la interfase serían favorecidos termodinámicamente. Se trata de una segunda fuerza capaz de conducir los procesos de la interfase (Costa et al., 2019; Cubero et al., 2002).

El papel principal de un emulsificante es adsorberse en la superficie de las gotas finas recién formadas para evitar la coalescencia con las gotas vecinas. Para una tasa fija de disipación de energía durante la emulsificación, la distribución final de tamaño de gotas se determina por el tiempo que tarda el emulsificante en cubrir la interfaz de la gota, en comparación con el intervalo de tiempo promedio de colisión entre las gotas. Cuando el emulsificante se adsorbe lentamente o está presente en bajas concentraciones, la mayor parte de las gotas individuales formadas no se conservan al final. Esto puede ser debido a la ruptura de la película fina formada entre las pequeñas gotas que choca (fusión) o el intercambio de la capa adsorbida entre dos gotas (floculación por formación de puentes polímero-polímero) (Cubero et al., 2002).

De acuerdo con Cubero et al., 2002, un emulsificante eficaz es aquel que:

- Reduce rápidamente la tensión superficial en la interfaz aceite-agua recién formada,
- Se une fuertemente a la interfaz una vez adsorbidos y
- Protege la gota recién formada contra la floculación o coalescencia; esta protección contra re-coalescencia inmediata se produce en primer lugar a través de efectos dinámicos de tensión superficial (mecanismo de Gibbs-Maragóni) y posteriormente a través de interacciones coloidales repulsivas.

Con emulsificantes poliméricos en concentraciones bajas, la cinética de adsorción de emulsificantes es un factor determinante. En algunos alimentos, la cinética de adsorción y el proceso de estabilización de interfases son complicados por el hecho de que las especies emulsificantes son polidispersos en tamaño y composición química (Dickinson, 2009).

La tensión superficial en el equilibrio de una solución de tensioactivo no se alcanza sino una vez transcurrido un tiempo determinado. Es necesario que las moléculas del tensioactivo migren a la superficie y se adsorban, adoptando una orientación propia. La tensión superficial de una interfase recién formada es igual a la del solvente puro y disminuye conforme el tiempo hasta alcanzar un valor al equilibrio. El tiempo que toma alcanzar este equilibrio puede ser desde segundos hasta horas, dependiendo de la concentración y tipo de tensioactivo. La migración del tensioactivo a la superficie resulta del gradiente de concentración entre el seno del líquido y la superficie recién formada.

Para una solución de tensioactivo en equilibrio, la concentración interfacial en equilibrio está dada por Γ_{eq} . Sin embargo, la adsorción es un fenómeno dinámico donde el flujo por adsorción es igual al flujo de desorción de las moléculas a la superficie (Figura 7) (Onaizi, 2018).

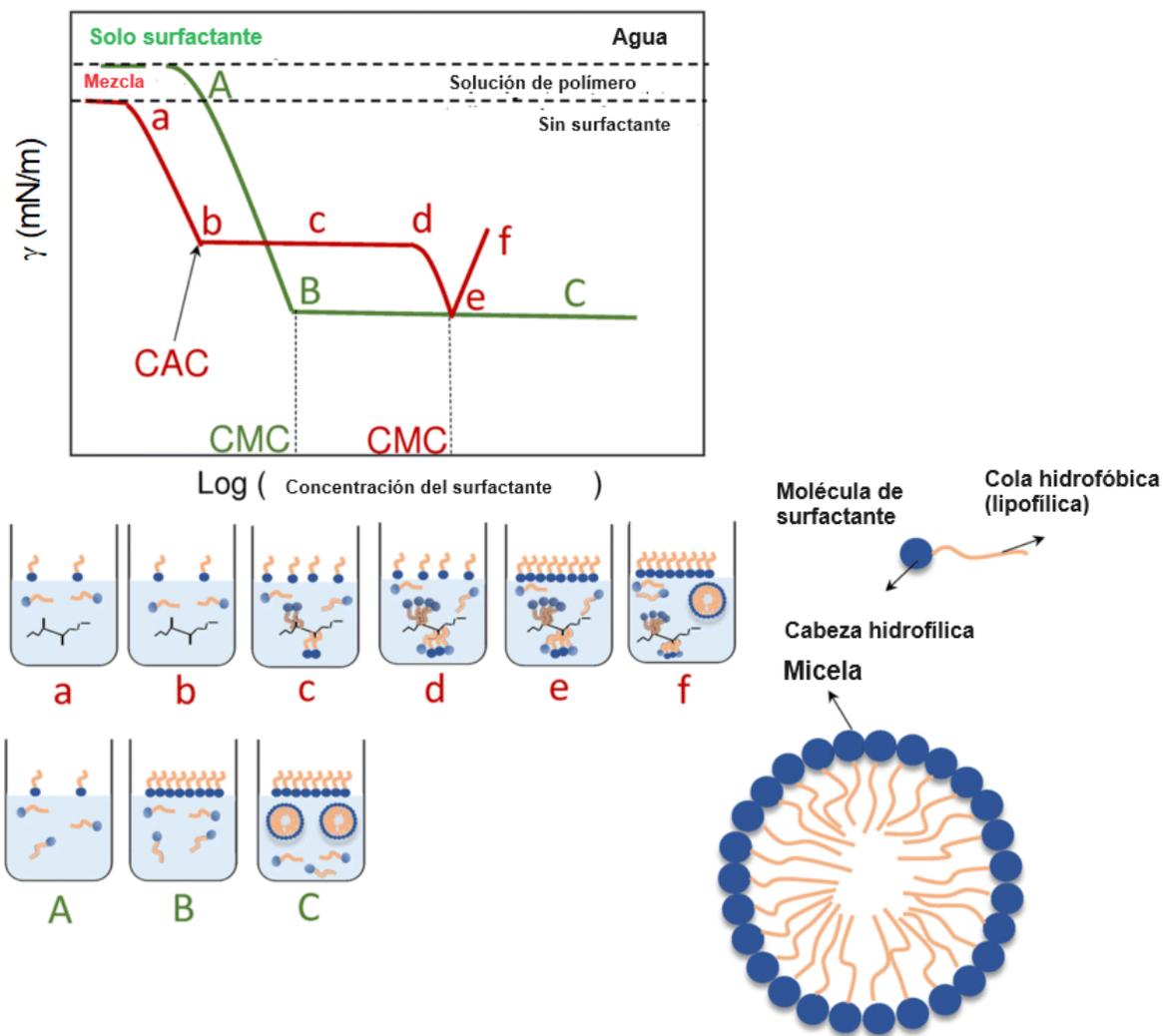


Figura 7 Tensión superficial (γ) versus concentración del tensioactivo; emulsión en ausencia de polímero (línea verde), mezcla que incluye polímero (línea roja). CMC= Concentración micelar crítica, CAC=Concentración de agregación crítica (Modificado de Saffarionpour, 2019).

En un sistema binario, cuando una superficie se expande, ya sea al crear una gota o formar una burbuja de aire, se crea un gradiente de concentración y la velocidad de adsorción es mayor que la de desorción. Así, con el objetivo de alcanzar el equilibrio, las moléculas migran del seno de la disolución, hacia la interfase. Durante el proceso de formación de una emulsión, el área de la interfase entre la fase continua y la dispersa aumenta considerablemente, comparada con el área antes de formar la emulsión, con lo cual la energía libre de la interfase también

aumenta. Termodinámicamente todos los sistemas evolucionan hacia su estado general de energía mínima, es por esto que las emulsiones tienden a separarse en fases para minimizar el área de contacto interfacial y la energía libre. Esta inestabilidad (Figura 8) se puede manifestar por varios mecanismos como son: floculación, coalescencia, sedimentación o cremado y maduración de Ostwald (Bouyer, Mekhloufi, Rosilio, Grossiord, & Agnely, 2012):

- **Floculación:** es el proceso por el cual dos gotas se encuentran y se unen sin que se produzca la ruptura de la película interfacial, este mecanismo depende del balance entre las fuerzas de atracción de van der Waals y las fuerzas de repulsión de tipo estérico debido a la presencia de moléculas en la interfase y fuerzas electrostáticas, si el sistema posee carga superficial.
- **Coalescencia:** es el proceso por el cual dos gotas se encuentran y se produce la ruptura de la película interfacial de manera que forman una gota más grande, en consecuencia, este proceso es irreversible y viene determinado por la elasticidad interfacial de la película adsorbida que se opone a la deformación/ruptura de la misma.
- **Sedimentación/cremado:** Este mecanismo tiene lugar en la emulsión cuando el tamaño de las gotas es micrométrico, de acuerdo con la diferencia de densidades entre el líquido disperso y la fase continua, se produce el fenómeno de sedimentación o cremado.
- **Maduración de Ostwald:** es un mecanismo de difusión de las moléculas de la fase dispersa a través de la fase continua, esta difusión se lleva a cabo de las gotas pequeñas hacia las más grandes, impulsadas por una mayor presión existente entre las primeras. Con el tiempo, la distribución de tamaño de gota se desplaza hacia valores mayores.

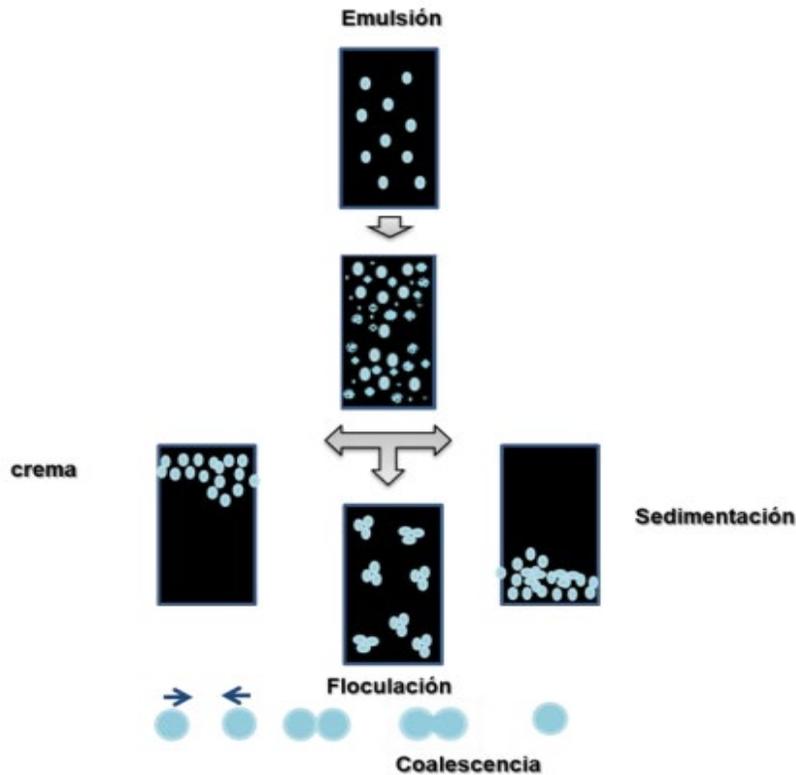


Figura 8 Mecanismos que alteran la estabilidad de emulsiones (Bouyer et al., 2012).

Por lo tanto, es de suma importancia que se detecten estos mecanismos de inestabilidad de las emulsiones, existen una gran diversidad de técnicas que se pueden aplicar para cuantificar este grado de desestabilización, uno de los equipos más usados es el dispersor de luz Turbiscan MA 2000® (Formulation, Francia), que tiene como fundamento incidir una cantidad de energía en forma de fotones a través de la solución que se va a analizar. Una parte de la energía incidente logra atravesar la muestra y es detectada mediante un diodo, se dice que es la energía transmitida. Por el contrario, la energía que no logra atravesar la muestra se le llama energía de retrodifusión. La prueba en el Turbiscan® es un barrido de energía luminosa a lo largo de la longitud de un tubo de ensayo en el que se encuentra la muestra. A cada 0.5 mm de la longitud del tubo, el Turbiscan® libera un pulso de fotones que son detectados en modo transmisión y retro-difusión por los respectivos diodos. A lo largo del tiempo se registran la

Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar). 32

evolución de la señal de transmisión y retro-difusión, la interpretación de la secuencia que muestra la señal permite determinar si la emulsión es estable o si está en un mecanismo de desestabilización (Figura 9).

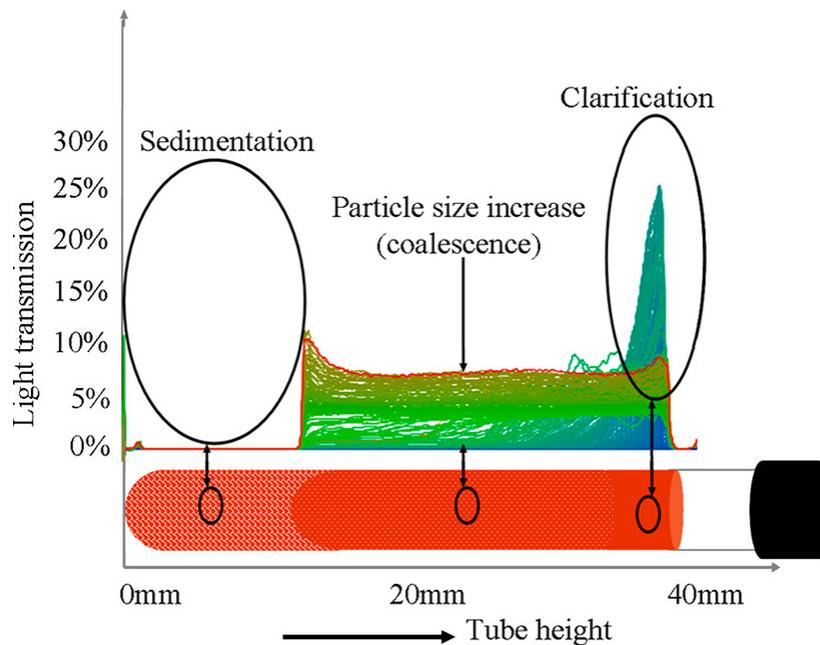
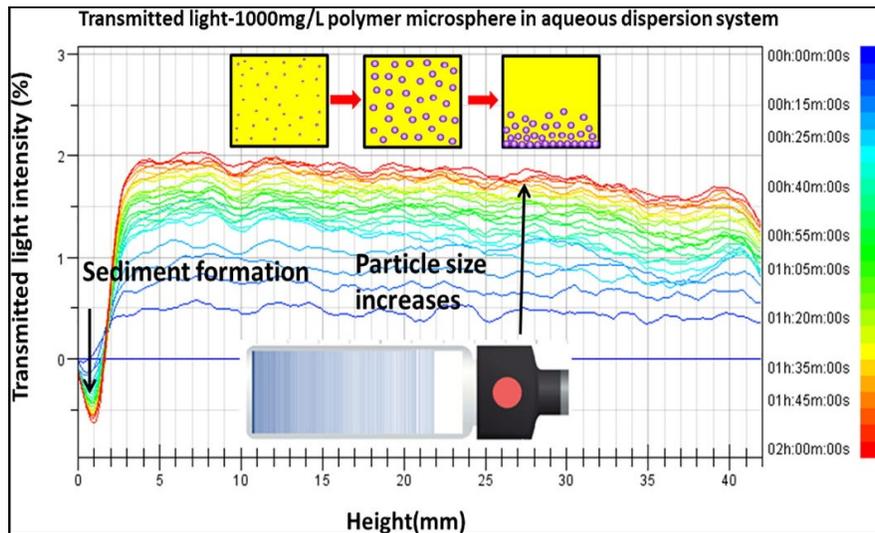


Figura 9 Esquema de las medidas de retro-difusión y energía transmitida de una emulsión, utilizando el dispersor de luz Turbiscan® (Formulation, Francia).

2.7 Hidrocoloides como emulsificantes en alimentos

Generalmente, en alimentos se usan como agentes emulsificantes a las proteínas y a algunos hidrocoloides como la goma acacia. Cuando las condiciones del medio son favorables, las proteínas tienden a ser más eficientes. Las proteínas tienen una mayor afinidad de unión y actividad de superficie, así como una menor saturación de las cargas superficiales que los polisacáridos usados como emulsificantes; sin embargo, existe un problema de rendimiento en las emulsiones estabilizadas con proteína, relacionado con la contribución de interacciones electrostáticas a la estructura de la capa adsorbida. Esto hace a las emulsiones estabilizadas con proteína sensibles a la desestabilización en condiciones ambientales desfavorables, por ejemplo: las emulsiones a base de proteínas de caseína son altamente sensibles a la desestabilización por la acidificación y los iones calcio y las emulsiones a base de proteínas de suero son muy sensibles al calor (Dickinson, 2009, 2010).

Por el contrario, el gran tamaño molecular y la hidrofobicidad de un polisacárido emulsificante permite la formación de una capa más gruesa interfacial que es capaz de proteger a las gotas contra la agregación en un amplio intervalo de condiciones desfavorables, tales como tratamientos térmicos y adición de sales de calcio (Chanamai & McClements, 2002). La mayoría de los hidrocoloides pueden actuar como estabilizantes de emulsiones aceite/agua, ya que modifican la reología de la fase continua, retardando el cremado o coalescencia. Sin embargo, sólo pocos hidrocoloides pueden funcionar como emulsificantes. Esta última funcionalidad requiere actividad superficial importante en la interfase aceite-agua y por lo tanto la habilidad para facilitar la formación y estabilización de gotas finas durante la emulsificación (Dickinson, 2003, 2009, 2010).

El hidrocoloide ampliamente conocido como emulsificante en alimentos es la goma arábica, la cual se usa principalmente para aceites aromáticos. Se usa generalmente en altas concentraciones (15-25%). Su capacidad emulsificante se asocia a la pequeña cantidad de proteína que se encuentra unida covalentemente

a su estructura altamente ramificada (Grein et al., 2013). Otros hidrocoloides que actualmente se producen como emulsificantes son los almidones modificados y los derivados de celulosa. La actividad de superficie de estos hidrocoloides se debe al carácter no polar de grupos químicos unidos a la cadena principal hidrofílica (Dickinson, 2009).

2.7.1 Propiedades emulsificantes de pectinas

No existe una explicación que detalle el origen de la capacidad emulsificante de las pectinas. Algunas hipótesis sugieren que el alto contenido de grupos acetilo podría ser causante de que la hidrofobicidad de la molécula de pectina aumente. Dea y Madden (1986) estudiaron la capacidad emulsificante de la pectina de remolacha azucarera en relación con su estructura química y concluyeron que no había evidencia concluyente de que la capacidad emulsificante estuviera afectada por la estructura química. Sin embargo, recientemente se ha reportado que la capacidad emulsificante de las pectinas se atribuye a la presencia de grupos hidrofóbicos en su estructura como acetilos y metilos, adicional a la proteína presente. En este sentido, los grupos metilo son cruciales en las pectinas cítricas, mientras que la proteína en la pectina de remolacha azucarera (Duan et al., 2021).

Las pectinas no son los únicos polisacáridos que han mostrado capacidad emulsificante, también están algunas gomas como: goma tragacanto, goma acacia, goma karaya. Las propiedades emulsificantes de algunas pectinas se han atribuido a la presencia de fragmentos de proteína en las cadenas de pectinas, los cuales permanecen en su estructura después del proceso de extracción (Oosterveld, Beldman, Schols, & Voragen, 2000). En el análisis a distintas muestras de pectinas comerciales se ha reportado la presencia de proteína rica en hidroxiprolina, la cual frecuentemente no es removida completamente durante la purificación de éstas; en pectina extraída de lúpulo se reportó la existencia de un complejo formado por arabinogalactano-proteína (Oosterveld et al., 2000). La presencia de proteína en pectinas ha sido significativamente mayor en el caso de pectina de remolacha

azucarera (10.4%) comparada con pectina de manzana (1.6%) y pectina cítrica (3-3.3%) (Williams et al., 2005).

En otros trabajos (Leroux et al., 2003), se ha reportado que el contenido de calcio también tiene un efecto importante en la capacidad emulsificante de las pectinas. Akhtar et al., (2002) mencionaron también la probabilidad de que el calcio induzca a la floculación a través de puentes de calcio, este efecto se observó en pectina de remolacha azucarera. El modelo hipotético de estabilización de emulsiones con pectinas se muestra en la Figura 10.

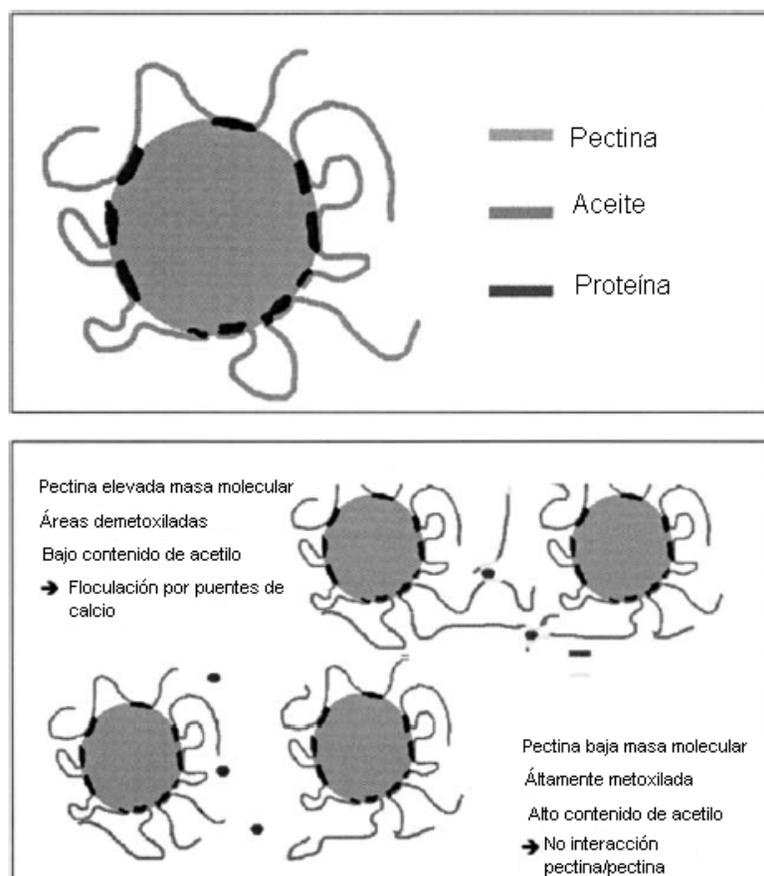


Figura 10 Modelo hipotético de estabilización de emulsiones por parte de la pectina (Leroux et al., 2003).

No obstante que el contenido de proteína en remolacha azucarera se ha asumido como la explicación a las propiedades emulsificantes de esta pectina

(Leroux et al., 2003), han surgido otras hipótesis para explicar el origen de las propiedades de superficie de pectinas. Algunos estudios refieren que las propiedades de emulsificación de la pectina de remolacha azucarera (4-5%) (Leroux et al., 2003) y Okra (20-40 %) (Kpodo et al., 2017) (Cuadro 4) se deben a la presencia de grupos acetilo en su estructura los cuales probablemente aumenten la hidrofobicidad de la pectina. Sin embargo, se han reportado propiedades emulsificantes en pectinas cítricas, las cuales son pobres en grupos acetilo (Akhtar et al., 2002). Peighambardoust et al., (2021) reportaron que las pectinas cítricas de baja masa molecular (60-70 kgmol) y alto grado de metoxilación fueron las que mostraron las mejores propiedades emulsificantes.

Las características químicas y macromoleculares de las pectinas influyen en su funcionalidad como emulsionantes. Alba y Kontogiorgos (2017) mencionan que las pectinas son tensioactivos adecuados para emulsiones de aceite en agua cuando contienen ~3% de proteína, un grado de acetilación de ~10% y están enriquecidas en ramnogalacturonano-I (RG-I) y ácidos ferúlicos. Además, una vez en la interfase, los reordenamientos conformacionales dependientes del pH y el grado de metilación influyen en el engrosamiento de la capa de pectina adsorbida en la interfase. A $\text{pH} \leq 3.5$, las pectinas alcanzan conformaciones compactas debido a la protonación del ácido galacturónico, lo cual promueve que los grupos hidrófobos se acerquen a la interfase y se adsorban en ella. Esa conformación compacta resulta en una estabilización estérica eficaz evitando fenómenos de coalescencia en emulsiones.

Otro estudio mostró, a través de mediciones dinámicas de tensión superficial, que, aunque las pectinas de manzana, de cítricos y de remolacha azucarera reducen la tensión superficial, la pectina de esta última fuente produce la mayor reducción. La tensión de la interfase de una solución al 2% de pectina de remolacha azucarera fue similar a la obtenida por una solución al 15% de goma arábiga (Leroux et al., 2003). El origen de estas propiedades de superficie encontradas en algunas pectinas, dentro de las cuales destaca la pectina de remolacha azucarera, debe de ser estudiado con mayor profundidad, ya que aún no es evidente el papel que tienen

los grupos acetilo, grupos éster, fracciones proteínicas e incluso la presencia de ácido ferúlico, el cual también se asocia con las propiedades de superficie de pectinas, debido a que se ha encontrado este compuesto unido a arabinosa y galactosa en cadenas laterales de algunas pectinas (Williams et al., 2005).

Algunas pectinas de diversas fuentes han sido utilizadas en la formulación de emulsiones, las características moleculares específicamente de Okra se presentan en el cuadro 4, como se puede observar todas las muestras tienen bajo grado de metoxilación (DM), alto grado de acetilación (DA) y alta masa molecular. Además, el contenido de proteína es relativamente parecido. La capacidad emulsificante de las pectinas se puede atribuir a las variaciones en la estructura molecular más que al contenido de proteínas. La relación molar de (arabinosa+galactosa)/ramnosa es un indicador del tamaño de la ramificación de las cadenas laterales en las unidades de RG-I, valores más altos indican una mayor ramificación (Kpodo et al., 2018).

Para el caso específico de la capacidad emulsificante de la pectina obtenida de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) no existen estudios que demuestren la razón por la cual son capaces de estabilizar emulsiones. Soto-Romero (2019) evaluó el efecto de la proteína estructural en la capacidad de adsorción de pectina de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) en emulsiones aceite en agua. La pectina de tuna con mayor contenido de proteína (PTCL, 4.4% proteína) y mayor contenido de ácido ferúlico (0.36%), presentó mayor capacidad de adsorción con respecto a la pectina de tuna desproteinizada (PTD, 1.5% proteína, 0.23% ácido ferúlico), ya que se requirió una concentración tres veces menor para saturar la interfase. La concentración de adsorción fue 6.5 y 22 mg/mL para PTCL y PTD, respectivamente. Por otra parte, las emulsiones estabilizadas con PTCL y PTD fueron estables durante 21 días de almacenamiento a temperatura ambiente, el tamaño de gota no presentó diferencia significativa.

Cuadro 4 Características moleculares de muestras de pectina de Okra que han sido usadas como emulsificantes

Genotipo	Proteína total (% b.s.)	Carbohidratos totales (% b.s.)	A. Gal (% b.s.)	DM (%)	DA (%)	(Ara+Gal)/Rha (% p/p)	RG- I (% p/p)	HG /RG-I (% p/p)	$[\eta]$ (dLg ⁻¹)	M _w (x10 ³ g mol ⁻¹)
Asha	5.5 ± 3.1 ^a	86.3 ± 2.0 ^a	63.4 ± 1.1 ^a	17.2 ± 1.4 ^a	39.3 ± 4.3 ^a	1.9	42.7	1.3	4.35	1202
Penkruma	4.4 ± 1.4 ^a	87.4 ± 1.0 ^a	62.4 ± 4.7 ^a	17.0 ± 0.1 ^a	19.9 ± 0.5 ^c	1.6	23.6	3.1	4.35	893
Asontem	3.8 ± 1.8 ^a	72.5 ± 2.5 ^b	54.2 ± 4.6 ^b	20.4 ± 1.8 ^{bc}	40.1 ± 5.7 ^a	3.4	29.8	2.2	3.55	1233
Agbagoma	5.4 ± 2.8 ^a	66.2 ± 4.3 ^b	51.9 ± 3.4 ^b	20.9 ± 1.8 ^c	31.7 ± 5.5 ^b	3.9	27.2	2.5	3.56	1419
Sengavi	7.1 ± 2.4 ^a	66.2 ± 4.3 ^b	59.2 ± 1.0 ^{ab}	18.4 ± 1.4 ^{ab}	22.4 ± 3.3 ^c	2.8	28.5	2.3	5.10	1693
Balabi	3.3 ± 1.0 ^a	87.5 ± 3.5 ^a	42.8 ± 1.3 ^c	25.5 ± 1.8 ^d	37.9 ± 5.8 ^{ab}	2.4	41.1	1.3	2.91	791

A. Gal = Ácido galacturónico; b.s. = Base seca; DM = grado de metoxilación; DA = grado de acetilación. Relación molar de azúcar (Ara+Gal)/Rha indica el tamaño de la ramificación de las cadenas laterales de RG-I con valores elevados indican una mayor ramificación. $[\eta]$ es la viscosidad intrínseca y M_w es el peso molecular promedio de las muestras (obtenido de Kpodo et al, 2017). Los promedios que llevan la misma letra en cada columna no tienen diferencia significativa (p>0.05).

Cuadro 5 Contenido de azúcares, proteína, grado de metoxilación y grado de acetilación de algunas pectinas de distintas fuentes.

Composición (% _{obs})	Manzana ^a	Cítricos ^a	Remolacha ^a	Cáscara ^b de tuna
Ácido Galacturónico	73.1	79.2	62.4	69.5±2.30
Ramnosa	2.3	1.4	5.4	1.8
Arabinosa	4.4	1.1	5.1	7.7
Xilosa	1.7	0.2	0.2	NR
Galactosa	4.2	2.4	9.3	5.7
Proteína	1.6	3-3.3	10.4	4.4±0.30_{bs}
Grado de acetilación	5	1.4-1.6	16-35	10.60
Grado de metoxilación	74	72	54	44.60±0.50

^a Leroux et al., 2003

^b Cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* cv Reyna)(A.I Rodríguez-Hernández & N. Chavarría-Hernández, 2021)

bs = base seca

2.8 Polisacáridos pécticos extraídos de la cáscara de tuna

En estudios previos se ha reportado la extracción de polisacáridos pécticos de cáscara de frutos de *Opuntia* (Forni et al., 1994; Habibi et al., 2004; Habibi, Mahrouz, & Vignon, 2005; Lira-Ortiz et al., 2014; Majdoub et al., 2001). El Cuadro 5 presenta la composición química de algunas de las fracciones de polisacáridos (mucílagos, pectinas) extraídos de la cáscara de tuna. Los distintos métodos de extracción generan diferencias en la composición de azúcares neutros y contenido de ácido galacturónico. Las extracciones ácidas y acuosas usando agentes quelantes y/o temperaturas altas (60-80°C) generan extractos con concentraciones de ácidos urónicos mayores al 50%, mientras que las extracciones acuosas a temperatura ambiente generan extractos con bajos contenidos de ácidos urónicos (9-14%) y ricos en azúcares neutros, principalmente arabinosa y galactosa. Los resultados obtenidos por Habibi et al. (2004; 2005) y Madjoub et al. (2001), indican que los polisacáridos extraídos de la cáscara de frutos de *Opuntia* pueden ser catalogados como polisacáridos pécticos debido a su contenido de ácido

galacturónico y éstos tendrían un potencial de aplicación como aditivos viscosificantes y/o gelificantes en la industria de alimentos o de bioproductos.

En estudios realizados por Lozada-Carbajal (2007) y Lira-Ortiz (2009) se estandarizó un proceso de extracción de pectinas a partir de cáscaras de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar.) variedad Alfajayucan, obteniéndose rendimientos entre 9 y 18% en base seca. El polisacárido extraído fue analizado en su contenido de azúcares (Cuadro 6), ácido galacturónico, masa molar y determinación de grupos funcionales a través de cromatografía de líquidos y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR). El polisacárido presentó la siguiente composición química: 65.4% de ácido galacturónico, 19.50% de galactosa, 0.12% arabinosa, 2.16% ramnosa, y 12% glucosa, con una distribución amplia de masas molares: 1114 kDa (80.54%), 655 kDa (10.55%) y 558 kDa (9%). 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 (*O. albicarpa*) cercano 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 (*O. albicarpa*) presenta índices de consistencia ($K: 0.01-1.56 \text{ Pa s}^n$) e índices de flujo entre 0.92 y 0.6 (Lira-Ortiz, 2009; Lira Ortiz et al., 2014).

Estudios posteriores estandarizaron un proceso de extracción y purificación de polisacáridos pécticos de cáscara de tuna (*O. albicarpa* Sheinvar) variedad Alfajayucan (Reséndiz-Vega, 2010), el cual generó un polímero formado por 3 fracciones de masas moleculares altas, 1556, 996.9, 599.2 kDa, que corresponden al 42, 34 y 22%, respectivamente, del polímero. Los análisis de FTIR confirmaron que el polisacárido tiene características estructurales de pectinas de bajo metoxilo, estimándose un porcentaje de esterificación ligeramente superior a 30% (Figura 10). El comportamiento reológico de la pectina de *Opuntia albicarpa* mostró alta reactividad al calcio, gelificando a temperaturas cercanas a ebullición. Los geles formados con esta pectina son altamente dependientes del tiempo, tienen un comportamiento viscoelástico tipo gel débil (Reséndiz-Vega, 2010; Lira-Ortiz et al., 2014).

Cuadro 6 Contenido de azúcares neutros y ácido galacturónico en polisacáridos péctico extraídos de cáscara de tuna. Datos expresados en % peso/peso en base seca (Modificado de Reséndiz-Vega, 2010).

Glu	Xil	Ram	Gal	Ara	A Gal	Fruto	Referencia
3.9	3.3	-*	34.5*	9.0	64.3	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Forni et al., 1994 ^a
0	0	48.2	0	0	51.8	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Madjoub et al., 2001 ^b
0	0	46.9	0	0	53.1	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Madjoub et al., 2001 ^c
1.5	4.5	4.2	23.5	32.7	14.2	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Habibi et al., 2004 ^d
3.3	0.9	3.7	4.0	17.2	64.5	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Habibi et al., 2004 ^e
12.5	0.8	12.5	10.8	1.2	50.7	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Habibi et al., 2005 ^f
0.012	ND	0.2	19.6	0.012	65.4	<i>Opuntia albicarpa</i> Sheinvar.	Lira-Ortiz et al., 2014
0.6	NR	1.8	5.7	7.7	69.5	<i>Opuntia albicarpa</i> Sheinvar.	Soto-Romero (2019) Rodríguez-Hernández & Chavarría-Hernández, 2021

Glu: glucosa, Xil: xilosa, Ram: ramnosa, Gal: galactosa, Ara: arabinosa; A Gal: ácido galacturónico

*Forni et al., (1994) reporta la suma de ramnosa y galactosa. ^a: Extracción ácida (HCl pH=2.0, 80 °C). ^b: Extracción acuosa a temperatura ambiente. ^c: Extracción alcalina (pH 7.0-7.5) con agentes quelantes (hexametáfosfato de sodio). ^d: Acuosa 20 °C. ^e: Extracción con agente quelante (EDTA 0.5%) en solución acuosa (60 °C). ^f: Extracción ácida fraccionada en 3 etapas. ^g: Extracción acuosa. ^h: Extracción con agente quelante (EDTA 1%) en solución acuosa a 70 °C. ⁱ: Extracción con agente quelante (EDTA 1%) en solución acuosa a 70 °C. Polisacárido dializado (corte molecular 10 kDa).

Los estudios llevados a cabo hasta ahora en polisacáridos pécticos extraídos de cáscaras de tuna (*O. albicarpa*) variedad Alfajayucan (Lozada-Carbajal, 2007; Lira-Ortiz, 2009; Reséndiz-Vega, 2010; Lira-Ortiz et al., 2014; Morales-Martínez et al., 2018; Soto-Romero 2019) confirman que la estructura de este polisacárido es de una pectina de bajo metoxilo con ramificaciones de azúcares neutros. El contenido alto de grupos carboxilos libres da lugar a una reactividad alta con el calcio generando geles suaves que pueden iniciar su gelificación a temperaturas altas y durante el enfriamiento se propician puentes de hidrógeno e interacciones iónicas entre cadenas laterales. Hasta ahora se ha confirmado la capacidad viscosificante y gelificante de este polisacárido que por su contenido de ácido galacturónico es posible identificarlo como “pectina”. El contenido de proteína (2-4%), la presencia de grupos acetilo y ácido ferúlico, sugieren que este polisacárido podría presentar propiedades de superficie, lo que daría un valor agregado ya que podría ser capaz de competir con otros hidrocoloides con propiedades emulsificantes como la goma arábiga, pectina de remolacha azucarera, derivados de celulosa y almidones modificados.

3. Justificación

Los cambios en el estilo de vida moderno, la creciente conciencia del vínculo entre la dieta, la salud y las nuevas tecnologías de procesamiento han conducido a un rápido aumento en el consumo de alimentos preparados, novedosos y el desarrollo de alimentos con alto contenido en fibra y bajo contenido en grasa. En particular muchos hidrocoloides se han desarrollado específicamente para ser usados como sustitutos de grasa en alimentos; esto ha llevado como consecuencia a un aumento de la demanda de hidrocoloides.

El mercado de los hidrocoloides está experimentando un crecimiento significativo, impulsado por la creciente demanda en diversas industrias, en particular la de alimentos y bebidas. El mercado mundial de los hidrocoloides se valoró en aproximadamente 11,200 millones de dólares en 2023, 11,470 millones de dólares en 2024 y se prevé que alcance los 17,320 millones de dólares en 2031 creciendo a una tasa anual del 5.4% durante el periodo previsto. Otro informe estima que el mercado se expandirá a 18.34 mil millones de dólares para 2031, con una tasa compuesta anual del 6% de 2024 a 2031 (Alita, 2023).

Existe una creciente preferencia de los consumidores por productos alimenticios precocinados y orientados a la salud, lo que impulsa la demanda de hidrocoloides, ya que mejoran la textura y la estabilidad en las formulaciones de alimentos. En el ámbito de la salud, la población se encuentra un tanto más consciente de las enfermedades crónico-degenerativas por lo que los consumidores ahora buscan productos con menos grasa, azúcar y sal, lo cual puede lograrse agregando a los alimentos algunos hidrocoloides.

Se espera que el sector de alimentos y bebidas domine el mercado de los hidrocoloides, utilizando estos compuestos por sus propiedades espesantes, estabilizantes y gelificantes en productos como salsas, lácteos y carne. Además, también se utilizan cada vez más en las industrias farmacéutica y cosmética, mejorando la estabilidad y textura del producto. Las empresas destacadas que operan en el mercado de los hidrocoloides incluyen: Cargill, Incorporada (EE. UU.),

Ingredion (Estados Unidos), Kerry Group plc (Irlanda), International Flavors & Fragrances Inc. (EE. UU.), Tate y Lyle (Reino Unido), CP Kelco U.S., Inc. (EE. UU.). Estas empresas se están centrando en la investigación y el desarrollo para innovar y ampliar su oferta de productos, particularmente en respuesta a la creciente demanda de ingredientes vegetales y de etiqueta limpia (Alita, 2023).

Por otra parte, no obstante que la industria de las pectinas se ha asentado en los cítricos y en residuos de la industria procesadora de manzana; nuevas fuentes de pectinas con propiedades funcionales novedosas para la industria de alimentos son atractivas desde el punto de vista científico y tecnológico. La tuna, es un fruto que se consume mayoritariamente en fresco, su cáscara es un subproducto sin valor comercial que es fuente de polisacáridos innovadores con propiedades viscosificantes, gelificantes y emulsificantes. Por este motivo, en este estudio se realizaron análisis fisicoquímicos para identificar si los polisacáridos pécticos de tuna poseen propiedades de superficie que les permitan competir en el mercado de hidrocoloides emulsificante (Alita, 2023).

4. Objetivos

General

Determinar las características químicas estructurales y las propiedades emulsificantes del polisacárido péctico extraído de la cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) variedad Alfajayucan, para evaluar su potencial como aditivo alimentario.

Específicos

- ❖ Determinar las propiedades químicas y macromoleculares (grado de metoxilación y acetilación, distribución de masas molares y viscosidad intrínseca) del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) variedad Alfajayucan, usando métodos colorimétricos, de cromatografía de líquidos y reológicos.
- ❖ Evaluar las propiedades en interfase fluida del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar), a través de mediciones de tensión estática.

5. Hipótesis

El polisacárido péctico de la cáscara de tuna tendrá características químicas de una pectina de bajo metoxilo, con propiedades emulsificantes de interés para la industria de los alimentos. A través de la caracterización química del polisacárido péctico de tuna (contenido de proteína, grupos metoxilo, grupos acetilo y ácido galacturónico) será posible interpretar las propiedades fisicoquímicas de este nuevo biopolímero para evaluar su potencial aplicación en matrices alimentarias.

6. Materiales y métodos

6.1 Materiales

Se usó polisacárido péctico (PT) extraído de cáscara de tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Sheinvar.) variedad Alfajayucan. Las tunas se adquirieron de la Central de Abastos de la ciudad de Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Se usaron tunas en madurez fisiológica (Figura 11).



Figura 11 Tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) variedad Alfajayucan.

6.2 Métodos

6.2.1 Obtención del polisacárido

Extracción

Se realizó la extracción de polisacáridos pécticos de tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Sheinvar) en medio acuoso, siguiendo un protocolo de extracción de 3 etapas (Reséndiz-Vega, 2010), a nivel laboratorio (volumen de operación: 3 L) (Figura 12). En la primera etapa se eliminaron mucílagos a temperatura ambiente (25 °C), en la segunda etapa se eliminaron polisacáridos estructurales solubles en

agua a 60 °C, finalmente en la tercera etapa, a 70 °C, se obtuvieron pectinas sensibles al calcio, usando como agente quelante ácido etilendinitrilo-tetracético (EDTA) al 0.5 % p/p. El polisacárido extraído se recuperó del medio de extracción utilizando etanol frío potable al 96% v/v.



Figura 12 Dispositivo de extracción de polisacáridos pécticos, compuesto de un tanque encaquetado de vidrio, un agitador Lighnin® con control de velocidad y monitoreo de temperatura.

Purificación

El polisacárido obtenido se suspendió en agua desionizada, manteniéndolo en agitación constante. El polisacárido disuelto se precipitó con etanol frío al 96% v/v, usando la relación extracto-etanol 1:1.5. Una vez precipitado, se eliminó de forma manual el exceso de alcohol-agua haciendo una serie de lavados. Posteriormente el polímero se secó en una estufa de secado convectivo (Shel Lab, 1380SX), a 45 °C durante 24 horas. Concluido el secado, el polímero se disolvió en agua desionizada y se sometió a diálisis (corte molecular 14 kDa). Una vez transcurrida la diálisis, se separaron las fracciones solubles e insolubles a través de centrifugación. El polisacárido péctico disuelto en el sobrenadante, se precipitó con

etanol frío, se secó y se pulverizó. La parte insoluble, constituida principalmente por proteína y polisacáridos estructurales insolubles en agua, se eliminó.

6.2.2 Análisis proximal

Determinación de humedad

Para la determinación del contenido de humedad en el polisacárido péctico seco, se pesaron por triplicado 0.1 g de polisacárido en un crisol de porcelana, previamente colocado a peso constante. Las muestras se secaron a 100 °C hasta peso constante en una estufa Shel Lab, modelo 1380FX. El porcentaje de humedad se calculó usando la ecuación 7.

$$\text{Humedad (\% p/p)} = \frac{(C_{mh} - C_{ms})}{m} \times 100 \quad \text{Ec 7}$$

Donde:

C_{mh} = masa de la cápsula con muestra húmeda (g)

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

m = masa de la muestra (g)

Determinación de cenizas

Se calcinaron 0.1 g de polisacárido libre de humedad en una mufla (Lunderberg/Blue No. Serie BH51700) a 550 °C durante 5 h. La determinación del contenido de cenizas se realizó por triplicado utilizando la Ecuación 8.

$$\text{Cenizas (\% p/p)} = \frac{(C_0 - C)}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 8}$$

Donde:

C_0 = masa del crisol con muestra calcinada (g)

C = masa del crisol seco (g)

m = masa de la muestra seca (g)

Determinación de proteína

El contenido de proteína en la pectina extraída se determinó mediante el método Kjendahl (AOAC, 1998), usando 0.1 g de muestra seca. El porcentaje de nitrógeno se calculó usando la Ecuación 9 y se usó como factor 6.25 para convertir el nitrógeno total a contenido de proteína. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

$$\% \text{ N} = \frac{(V - V_0)(N_{\text{H}_2\text{SO}_4})(\text{meq}_\text{N})}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 9}$$

Donde:

V = volumen de H_2SO_4 gastados en la titulación de la muestra (mL)

V_0 = volumen H_2SO_4 gastados en la titulación del blanco (mL)

$N_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = normalidad de H_2SO_4 (miliequivalentes/mL)

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

m = masa de la muestra (g)

6.2.3 Contenido de grupos acetilo y grado de esterificación

Contenido de acetilos

La determinación de grupos acetilo se realizó de acuerdo con la técnica colorimétrica propuesta por McComb y McCready (1957). La reacción de los grupos éster de la pectina en presencia de hidroxilamina alcalina a temperatura ambiente, produce pectina-ácido hidroxámico, éste en presencia de iones férricos forman un complejo insoluble; mientras que el ácido acetohidroxámico, producido a partir de grupos acetilo secundarios de pectina, produce un complejo rojo soluble; esta reacción sirve como base para la determinación de grupos acetilo presentes en las sustancias pécticas y carbohidratos acetilados.

Se pesaron 0.1 g de pectina, se adicionaron 5 mL de solución de NaOH (9.4 % (p/p)) y 5 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina (3.75% (p/p)). Se agitó la mezcla hasta completa disolución del polisacárido. De la solución anterior, se tomó 1 mL, al que se le agregaron 2.5 mL de agua destilada y 2.5 mL de solución de ácido perclórico frío disuelto en metanol absoluto grado reactivo (7.04 % (v/v)). Se agitó vigorosamente en el vortex, de tal manera que se aseguró una adecuada homogenización; posteriormente se adicionaron 6.5 mL de solución de perclorato férrico (la cual se preparó disolviendo 1.93 gramos de cloruro férrico en HCl concentrado, posteriormente se agregaron 5 mL de ácido perclórico al 70% (v/v) y se evaporó casi completamente la solución; una vez realizada la evaporación se diluyó con agua hasta alcanzar un volumen de 100 mL y esta solución se usó como solución *stock*. De esta solución *stock* se tomaron 60 mL y se adicionaron 8.3 mL de ácido perclórico al 70%, se enfrió con hielo y se le adicionó etanol absoluto grado reactivo para alcanzar un volumen de 500 mL y nuevamente se mezcló con un vortex. Después de aproximadamente 5 minutos, se filtró la solución para separar la fracción insoluble de la soluble; a la fracción soluble se le midió la absorbancia a 520 nm. La cuantificación del contenido de acetilos se determinó a través de una

curva estándar usando penta-acetato de glucosa (0 a 500 µg de acetilos por muestra).

6.2.4 Masas molares

La distribución de masas moleculares en la pectina de cáscara de tuna se realizó por cromatografía de exclusión molecular (HPLC-SEC), en la Central Analítica del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) Unidad Zacatenco (estudios realizados a través de la colaboración con la Q. Elvira Ríos Leal). Para este estudio, se usaron 500 mg de polisacárido péctico de cáscara de tuna, al cual se le adicionaron 20 mL de isopropanol para purificarlo, la mezcla se sonicó durante 20 min a 24 °C y se centrifugó. La fase líquida se decantó y el disolvente se eliminó por evaporación. De la muestra seca se pesaron 10 mg, los cuales se aforaron a 10 mL con agua destilada. La muestra se sonicó durante 20 minutos para su mejor disolución, se filtró usando un filtro de Nylon de 0.22 µm de tamaño de poro y se inyectaron 30 µL en el cromatógrafo. El análisis se realizó en un cromatógrafo Perkin Elmer Series 200 EP con detector de índice de refracción usando las condiciones mostradas en el Cuadro 7.

Cuadro 7 Condiciones cromatográficas para la determinación de distribución de masas moleculares en pectina extraída de la cáscara de tuna.

Columna	PolySep-GFC-P 50000 7.8 mm DI × 30 cm, 10µm
Fase móvil	H ₂ O
Temperatura de la columna	65 °C
Flujo	0.6 mL/min

6.2.5 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier

Los análisis de infrarrojo que se realizaron al polisacárido péctico de cáscara de tuna se hicieron con la finalidad de identificar los grupos funcionales y la huella dactilar, característicos de polisacáridos pécticos. Se comparó el espectro de infrarrojo de la pectina extraída con aquellos de pectinas comerciales. Para esta determinación se usó un espectrómetro de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) (Cary 630, Agilent Technologies Inc. EE. UU.), se usó el accesorio de reflectancia total atenuada (ATR). Las muestras se analizaron entre números de onda de 4000 y 650 cm^{-1} con 32 escaneos y una resolución de 4 cm^{-1} . El procesamiento de los espectros se realizó con los programas Resolutions Pro® y MicroLab® (Agilent Technologies Inc. EE. UU.).

El grado de metilesterificación del polisacárido péctico (DM), definido como el porcentaje molar de los ácidos galacturónicos esterificados con grupos metilo, se determinó a través de FTIR adoptando la técnica reportada por Alba et al. (2018) y Burgos-González (2023), usando la ecuación 10. El área de la banda cercana a 1730 cm^{-1} es proporcional al número de grupos carboxilos esterificados, mientras que la banda cerca de 1600 cm^{-1} es proporcional al número de grupos carboxilos libres.

$$DM(\%) = \frac{A_{1730}}{A_{1730} + A_{1600}} (100) \quad Ec\ 10$$

En donde A_{1730} y A_{1600} son las áreas bajo las bandas de absorción en 1730 y 1600 cm^{-1} , respectivamente.

6.2.6 Viscosidad intrínseca

Se prepararon soluciones acuosas del polisacárido péctico de tuna con concentraciones inferiores a 0.1% (p/p), usando como solvente NaCl 0.3 M. Se evaluó la viscosidad del disolvente y de las soluciones de pectina a 25 °C con un

viscosímetro capilar marca Cannon-Fenske (ASTM No. 50) sumergido en un baño de agua con control de temperatura. A partir de los datos de viscosidad de las soluciones (η) y viscosidad del disolvente (η_s) se determinó la viscosidad relativa (η_{rel}) usando la Ecuación 11.

$$n_{rel} = \frac{\eta}{\eta_s} \quad Ec\ 11$$

η = viscosidad de la solución

η_s = viscosidad del disolvente

A partir de la viscosidad relativa se determinó la viscosidad específica (η_{sp}) con la Ec. 12

$$n_{sp} = n_{rel} - 1 \quad Ec\ 12$$

La viscosidad reducida (η_{red}) se determinó con la Ec. 13

$$n_{red} = \frac{n_{sp}}{C} \quad Ec\ 13$$

Donde C es la concentración del polímero en g/L o g/mL.

La viscosidad intrínseca ($[\eta]$) se obtuvo usando las ecuaciones de Huggins (Ec. 14) y Kraemer (Ec. 15).

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad Ec.\ 14$$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{C} = [\eta] + k''[\eta]^2 C \quad Ec.\ 15$$

A través de regresión lineal de los datos, $\frac{\eta_{sp}}{C}$ y $\frac{\ln \eta_{rel}}{C}$ en función de la concentración de polímero, C.

6.2.7 Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico

6.2.7.1 Preparación de soluciones

Se prepararon 10 mL de dispersiones de pectina de tuna con concentraciones de 0.4% a 1.0% p/p. La dispersión del polisacárido se extendió hasta 16 horas para asegurar disolución del polisacárido. A estas dispersiones se les determinó la densidad, previo al análisis de sus propiedades de superficie en un densímetro digital modelo DMA-38 marca Anton Para (Figura 13). Este instrumento cuenta con un tubo de vidrio en forma de U que se hace vibrar con ayuda de un electroimán. El tubo de vidrio vibra con un determinado número de oscilaciones por segundo. Éstas se modifican si el tubo se llena de la sustancia líquida. Cuanto mayor es el peso introducido, menor es el número de oscilaciones, es decir, que aumenta el tiempo necesario para una oscilación. Se mide así el tiempo necesario para que el movimiento de vaivén de una oscilación y a través de una ecuación algebraica que está programada en el instrumento, con lo que es posible conocer la densidad del líquido a partir de los tiempos necesarios para las oscilaciones (Anton Paar, 2014). Las pruebas se llevaron a cabo a 20 °C, en las cuales se obtuvo la densidad relativa de las disoluciones, que posteriormente se multiplicó por la densidad absoluta del agua pura a 20 °C, para conseguir la densidad absoluta de las disoluciones acuosas de polisacárido péctico de cáscara de tuna. Los resultados obtenidos en esta etapa fueron usados para la determinación de la tensión en la interfase agua-aire.



Figura 13 Densímetro digital modelo DMA-38 marca Anton Paar.

6.2.7.2 Medición de la tensión superficial en soluciones acuosas de pectina de cáscara de tuna

El equipo que se usó fue un tensiómetro computarizado que utiliza el método de gota colgante, de marca SINTERFACE modelo PAT1 (Figura 14). El equipo utiliza el método de integración numérica de Kutta-Merson con un paso de integración variable, en el programa del equipo se resuelve la ecuación de Laplace-Young. El perfil de cada gota generada se mide matemáticamente mediante la determinación del diámetro de gota y el diámetro del ápice de la gota. Se colocó el capilar dentro de aproximadamente 10 mL de solución para que el sistema dosificante lleve la muestra a la cámara. Se registraron los valores de la tensión superficial En función del tiempo.

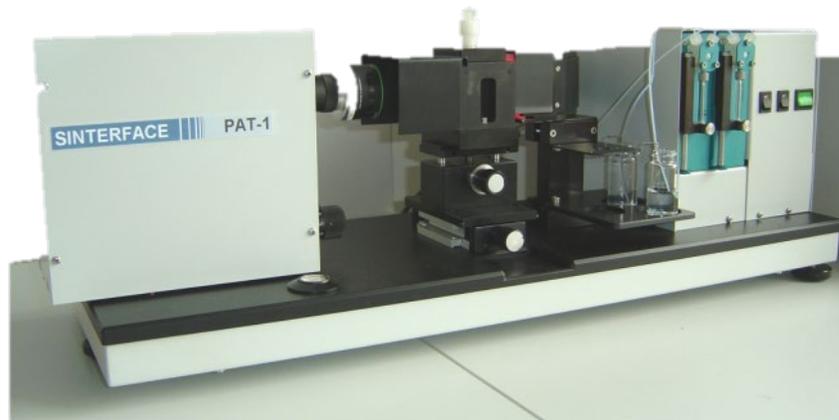


Figura 14 Tensiómetro de gota colgante Sinterface PAT1.

6.2.8 Estabilidad de emulsiones con polisacárido péctico de tuna

Se prepararon 150 mL de volumen total de emulsiones, las cuales estuvieron constituidas con 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite de cártamo, Oleico®, México). Se formó la emulsión (Figura 15) integrando gota a gota el aceite de cártamo en la solución de pectina, usando un agitador IKA RW20 a 1000 rpm durante 10 minutos, posteriormente se aumentó la velocidad a 2000 rpm hasta formar la emulsión completa. Todas estas pruebas se hicieron en baño María con agua fría para evitar el aumento de la temperatura. Estas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Reología y Propiedades Funcionales de la Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, UNAM.



Figura 15 Integración del aceite a la solución acuosa de Pectina de Tuna al 1% para formar la emulsión.

La estabilidad de la emulsión recién preparada se analizó en un equipo Turbiscan MA 2000 (Figura 16) del Laboratorio de Reología y Propiedades Funcionales de la Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, UNAM; este equipo ofrece la medida de desestabilidad en función de la agregación de partículas (floculación) o migración de partículas (sedimentación).



Figura 16 Turbiscan® marca MA2000.

6.2.9 Reología de la emulsión

Se realizaron pruebas de cizalla oscilatoria de baja amplitud a la emulsión aceite en agua (O/W) formulada con pectina de tuna (PT), en un intervalo de frecuencia (ω) de 0.1 a 100 rad/s. En estas pruebas se aplicó una deformación sinusoidal sobre el intervalo de frecuencia y se midieron los valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') a 25 °C. Las pruebas se realizaron dentro de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL), para determinar esta zona, se realizó un barrido de deformación a 1 rad/s previo al barrido de frecuencia. La reometría se realizó en un reómetro AR2000 TA Instruments con geometría de cilindros concéntricos de doble pared.

7. Análisis y Discusión de resultados

7.1 Análisis proximal

En el presente trabajo, el polisacárido péctico fue sometido a un proceso de clarificación, de tal manera que se obtuvo una fracción soluble en agua y una insoluble; la fracción insoluble fue descartada (impurezas) y la fracción soluble fue el polisacárido clarificado. Los resultados del análisis proximal se muestran en el Cuadro 8 y se comparan con los obtenidos por Lira-Ortiz (2009) y Reséndiz-Vega (2010), quienes extrajeron pectina de la misma variedad de tuna usada en este trabajo y con condiciones de extracción similares.

Cuadro 8 Análisis proximal de pectina obtenida de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar). Se muestran datos promedio (n=3) + su desviación estándar.

	Humedad (% p/p)	Proteína (% p/p _{b.s.*})	Cenizas (% p/p _{b.s.*})
Lira-Ortiz, 2009 Extracción acuosa con 1.0 % EDTA, 70 °C, 2 h	10.89 ±0.12	0.30±0.01	9.80±0.92
Reséndiz-Vega, 2010 Extracción acuosa con 0.5% EDTA, 70 °C, 2 h	9.66±1.15	1.83±0.28	0.22±0.003
Presente trabajo <i>Polisacárido clarificado</i> (Fracción soluble) (Extracción acuosa con 0.5% EDTA, 70 °C, 2 h)	9.51±0.90	0.92±0.03	0.87±0.026
<i>Fracción insoluble</i>	---	8.20±0.07	13.82±0.81

El Cuadro 8 muestra que el contenido de cenizas del polisacárido péctico obtenido en el presente trabajo se encuentra por debajo de 1%, similar al que obtuvo Reséndiz-Vega (2010). Sin embargo, en el presente trabajo el contenido de proteína del polisacárido péctico de cáscara de tuna disminuye cerca del 50% con respecto al reportado por Reséndiz-Vega (2010), esto se atribuye al proceso de clarificación del polisacárido. De acuerdo a los datos de proteína y cenizas de la fracción

insoluble, es evidente que durante el proceso de clarificación se retiran proteínas que se co-extraen con el polisacárido.

7.2 Contenido de grupos acetilo y porcentaje de esterificación en pectina extraída de cáscara de tuna

Contenido de acetilos en pectina

La metodología seguida generó una curva patrón que se describe con la ecuación $Abs = -0.003 + 0.0046x$ con un valor de $R^2 = 0.993$. Con ésta se determinó el contenido de grupos acetilo en la pectina de cáscara de tuna, el cual fue de $0.74\% \pm 0.002\%$ p/p. Se sabe que el crecimiento de las plantas y las respuestas al estrés biótico y abiótico están significativamente influenciados por la acetilación. Sin embargo, se sabe poco sobre el mecanismo subyacente a la O-acetilación del polímero de la pared celular (Lunin et al., 2020, Pauly y Ramírez, 2018). De acuerdo con Pilnik y Voragen (1992), cuando una pectina contiene más del 2.5 % de grupos acetilo en su estructura, su capacidad gelificante disminuye. Otros estudios han indicado que un grado de acetilación (DA) de ~4 % es crítica para la capacidad gelificante de las pectinas (Iglesias y Lozano, 2004). En el caso de la pectina extraída de cáscara de tuna, el contenido de grupos acetilo es bajo, aunque no despreciable, ya que según distintos autores (Iglesias & Lozano, 2004; Kiong Siew & Williams, 2008; Yapo, Robert, Etienne, Wathelet, & Paquot, 2007), la presencia de grupos acetilo en la estructura de la pectina es una de las razones por las que las pectinas pueden ser usadas como agentes emulsificantes. En el Cuadro 9 se presentan algunos datos de contenido de acetilos en pectinas. Los grupos acetilo, reducen la capacidad de gelificación de las pectinas debido al impedimento estérico para la asociación de cadenas. En particular, se ha reportado que la pectina de remolacha azucarera, contiene cantidades importantes de grupos acetilo, lo cual se asume que es una de las principales razones por las que esta pectina tiene una pobre capacidad gelificante en presencia de iones calcio (Renard, 1999).

Cuadro 9 Contenido de grupos acetilo en pectinas de distintas fuentes.

Fuente de pectina	Contenido de acetilo	Referencia
Remolacha azucarera	2 - 9%	Dea y Madden 1986
Cítrica y de manzana	~0.8 %	Mazoyer et al., 1999
Girasol	2.3% - 2.6%	Iglesias y Lozano, 2004
Remolacha azucarera	0.8% - 3.8 %	Yapo et al., 2007
Cáscara de tuna <i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar 'Reyna'	10.40 \pm 0.20 %	Rodríguez-Hernández & Chavarría-Hernández 2021
Cáscara de tuna <i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar	0.74% \pm 0.002% (p/p)	Presente trabajo

El contenido de grupos acetilo (0.74%) y el contenido de proteína (0.92%) le confiere al polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna, grupos hidrofóbicos para actuar como emulsificante. El valor de contenido de acetilos fue bajo comparado al reportado por Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández (2021) para la misma fuente, esta discrepancia puede atribuirse a la metodología usada, en el estudio del 2021 se usó cromatografía de líquidos mientras que, en el presente estudio, un método colorimétrico. La acetilación de pectina también podría contribuir a la viscosidad al promover interacciones hidrofóbicas (Sengkhamparn et al., 2009).

7.3 Distribución de masas moleculares

La pectina por naturaleza es una familia de polisacárido con una composición que cambia dependiendo de la fuente y condiciones de extracción, la distribución de masas molares de la pectina es uno de los aspectos más importantes para su caracterización, que influye en sus propiedades funcionales en diversas aplicaciones. En el Cuadro 10 se presenta la distribución de masas moleculares presente en el polisacárido péctico de tuna y se compara con el obtenido por Lira-Ortiz et al. 2014 y Morales-Martínez et al. 2018.

Cuadro 10 Distribución de masas moleculares en pectinas extraídas de cáscara de tuna *Opuntia albicarpa* Sheinvar.

Masa molecular (g·mol ⁻¹)	%	Referencia
11.14 × 10 ⁵	80.45	Lira-Ortiz et al., 2014
6.55 × 10 ⁵	10.55	
5.58 × 10 ⁵	9	
2.04 × 10 ⁵	100	Morales-Martínez et al., 2018
12.60 × 10⁵	41.18	Presente trabajo
9.80 × 10⁵	4.29	
5.08 × 10⁵	32.65	
4.19 × 10⁵	5.91	
6.6 × 10³	15.94	

La masa molecular de las pectinas está directamente relacionada con la longitud de la cadena, es una característica muy importante de la que depende la viscosidad de las disoluciones y su comportamiento durante la gelificación. Se puede observar en el Cuadro 10 y en la Figura 17, que el polisacárido péctico de tuna es un polisacárido polidisperso que presenta 5 fracciones con dos de ellas predominando (≈74%).

Las pectinas pueden contener en su estructura alrededor de 1000 unidades de carbohidratos; esto corresponde a pesos moleculares que van desde los 50,000 a los 150,000 Da; estas diferencias entre las moléculas se deben principalmente a la fuente a partir de la cual se extrae y los métodos de extracción que se usan (Sriamornsak, 1999; Corredig et al., 2000). Otra variable es la técnica usada para la determinación de la distribución de masas molares (i.e. columna, flujo, estándares de masa molar, fase móvil, etc.) y el software para el análisis de datos. Morales-Martínez et al., (2018) usaron como fase móvil NaNO₃ + 0.01 M NaH₂PO₄, pH=7, por lo que es posible que las moléculas del polisacárido péctico presenten apantallamiento electrostático, disminuyendo la repulsión de cadenas poliméricas y, por lo tanto, formen conformaciones más compactas, con menor radio

hidrodinámico que eluyen a tiempos mayores dando lugar a valores de menor masa molar, como se observa en el Cuadro 10.

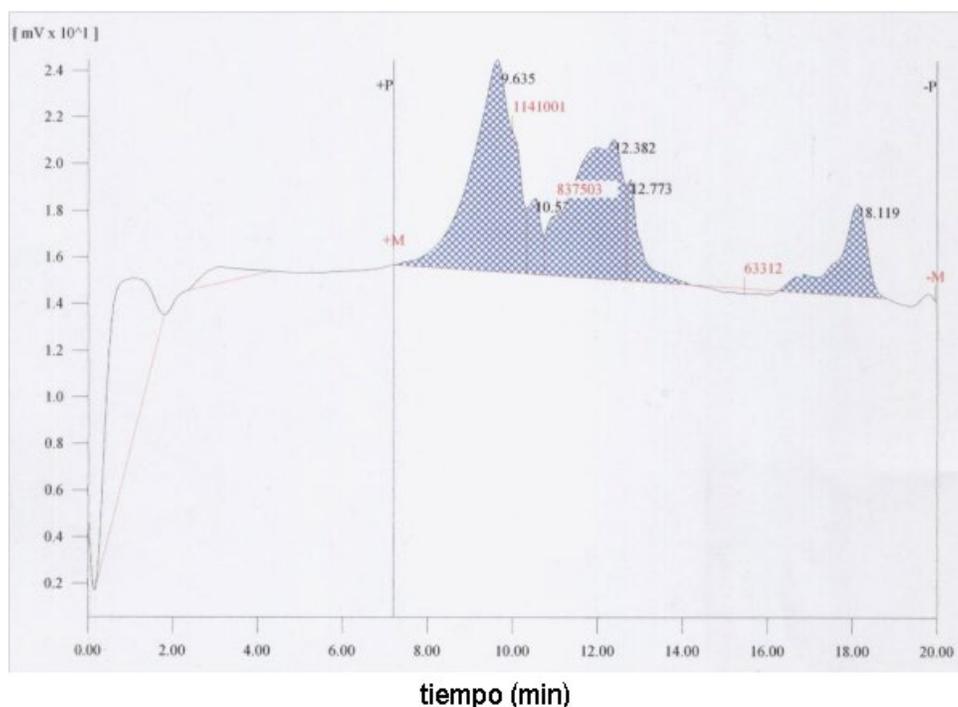


Figura 17 Distribución de masas moleculares en el polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna blanca *Opuntia albicarpa* Sheinvar, realizada en HPLC-SEC.

Las pectinas de mayor masa molar tienden a formar geles más fuertes, mientras que las de menor masa molar pueden exhibir diferentes comportamientos reológicos.

7.4 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

El análisis por espectroscopia de infrarrojo permitió identificar los grupos funcionales presentes en el polisacárido péctico de cáscara de tuna. El espectro de la Figura 18 muestra un pico de absorción ancho entre 3000 y 3600 cm^{-1} atribuido

a las vibraciones de tensión del enlace O–H; un pico cerca de 2900 cm^{-1} que corresponde a la absorción de los enlaces C–H de los grupos CH_2 y CH_3 . Los picos característicos de las vibraciones del enlace C=O de los grupos éster y carboxilo, fueron observados a 1725 y 1600 cm^{-1} , respectivamente. Varios estudios han mostrado que la intensidad relativa de estos dos picos está relacionada con el grado de metilesterificación de las pectinas (Lira-Ortiz et al., 2014; Manrique & Lajolo, 2002; Pappas et al., 2004).

De acuerdo con Lira-Ortiz et al., 2014, la intensidad relativa del pico del grupo éster incrementa proporcionalmente con el grado de metoxilación, mientras que el pico correspondiente con los grupos carboxilo disminuye. Por lo tanto, de acuerdo con la proporción de las bandas el espectro de FTIR del polisacárido péctico de tuna indica una pectina con un bajo grado de esterificación al compararse con pectinas comerciales con un grado de esterificación mayores de 70%. Con el espectro de la figura 17 se determinó el área bajo la curva de las bandas de absorción a 1600 y 1725 cm^{-1} para calcular la proporción de grupos carboxilo esterificados, lo cual resultó en un valor de grado de metil-esterificación de 18.33%.

Košťálová et al.,(2013), reportaron que la huella dactilar de las pectinas está representada por 5 picos característicos en la región de $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, estos picos se presentan en las longitudes de onda de 1145 , 1103 , 1077 , 1050 y 1017 cm^{-1} , la presencia de estos cinco picos es una evidencia clara de la presencia de polisacáridos tipo pectina. Las similitudes encontradas en la huella dactilar del polisacárido péctico de tuna, pectina de manzana y cítrica (Figura 18) confirman la naturaleza péctica del polisacárido extraído de la cáscara de tuna, y el análisis de las áreas de los picos a 1600 y 1725 cm^{-1} confirman que la pectina de cáscara de tuna es de bajo grado de metoxilación.

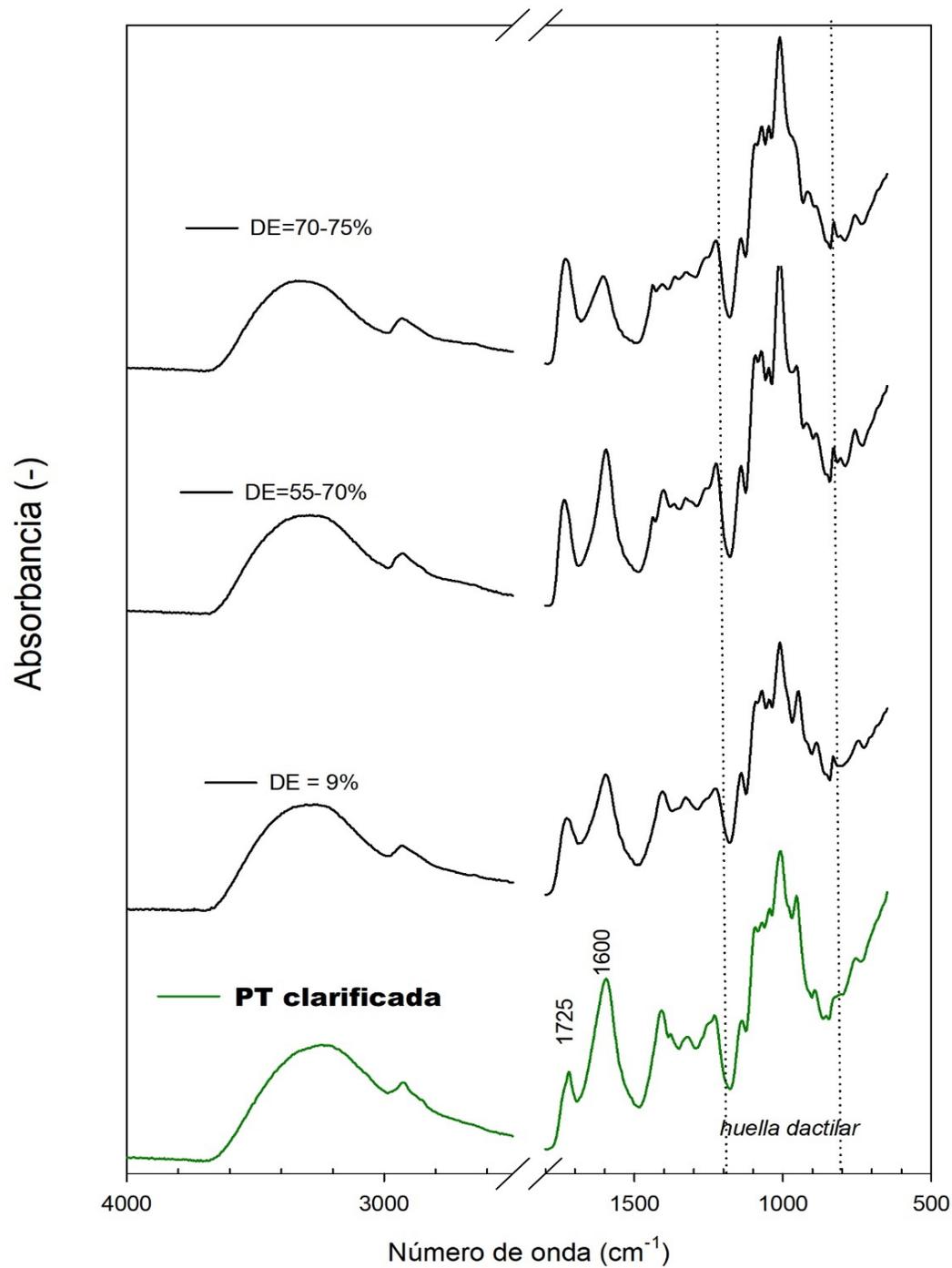


Figura 18 Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier de pectina comercial de manzana (Fluka, grado de esterificación (DE): 70-75 %), pectina cítrica (Sigma-Aldrich, P9436, DE:55-70%), pectina cítrica grado alimentario (CP Kelco, DE: 9%) y pectina extraída de cáscara de tuna (PT).

7.5 Determinaciones reológicas

7.5.1 Viscosidad intrínseca

La viscosidad intrínseca no es una viscosidad del todo (medida de la resistencia al flujo), es más bien una magnitud que describe el volumen hidrodinámico de las moléculas, en caso de que éstas no formen agregados o existan interacciones electrostáticas inter o intramoleculares que afecten su conformación. Para el caso de las macromoléculas con carga, se tiene que usar sales o contraiones para neutralizar la carga y evitar la formación de agregados macromoleculares. En 1971, Smidsrød & Haug, encontraron que las cadenas de polisacáridos aniónicos en solución pueden estar en “dimensiones no perturbadas” cuando su carga se neutralizan usando soluciones de NaCl, frecuentemente a concentraciones de 0.1 M, pero esto es dependiente de la carga y masa molar del polisacárido (Smidsrød & Haug, 1971). Para la determinación de la viscosidad intrínseca del polisacárido péctico, se prepararon soluciones de distintas concentraciones de polisacárido, de tal manera que la viscosidad de las soluciones mostrase un comportamiento newtoniano, las concentraciones con las que se logró obtener este comportamiento fueron: 0.009%(p/p), 0.01%(p/p), 0.02%(p/p) y 0.03%(p/p), evaluado la viscosidad en el intervalo de velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) de 10-100 s⁻¹. Se evaluaron también concentraciones de NaCl desde 0.1 hasta 0.5 M, fijando la fuerza iónica en 0.3 M con NaCl (Figura 19) para la determinación de viscosidad intrínseca $[\eta]$.

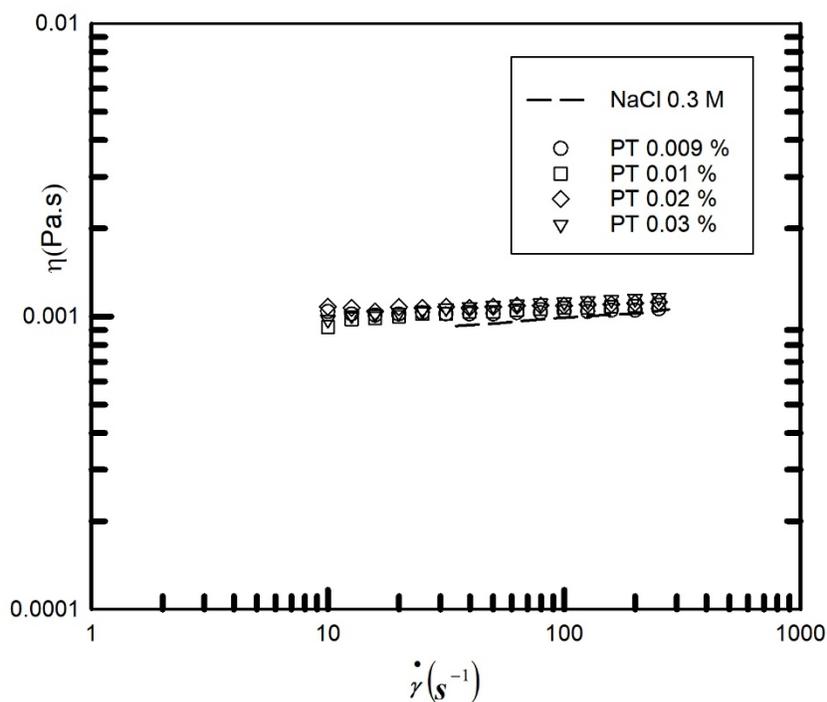


Figura 19 Viscosidad (η) de soluciones de polisacárido extraído de cáscara de tuna (PT), disueltas en NaCl 0.3 M. Determinaciones realizadas a 25 °C en geometría de cilindros concéntricos de doble pared.

Después de comprobar el comportamiento newtoniano de las soluciones diluidas y del solvente, se procedió a la determinación de la viscosidad intrínseca del polisacárido péctico de tuna, la cual se realizó a partir de las correlaciones de Huggins y Kraemer, en el intervalo de concentración en el que estas funciones son lineales. Los datos experimentales obtenidos a 25 °C y los parámetros de las ecuaciones de Huggins y Kraemer, se muestran en la Figura 20. Por extrapolación a concentración de polisacárido igual a cero, se determinó la viscosidad intrínseca $[\eta]$ (ver sección 6.2.6). Los valores de $[\eta]$ obtenidos por ambas ecuaciones se promediaron y ese dato promedio se reporta en el cuadro 11.

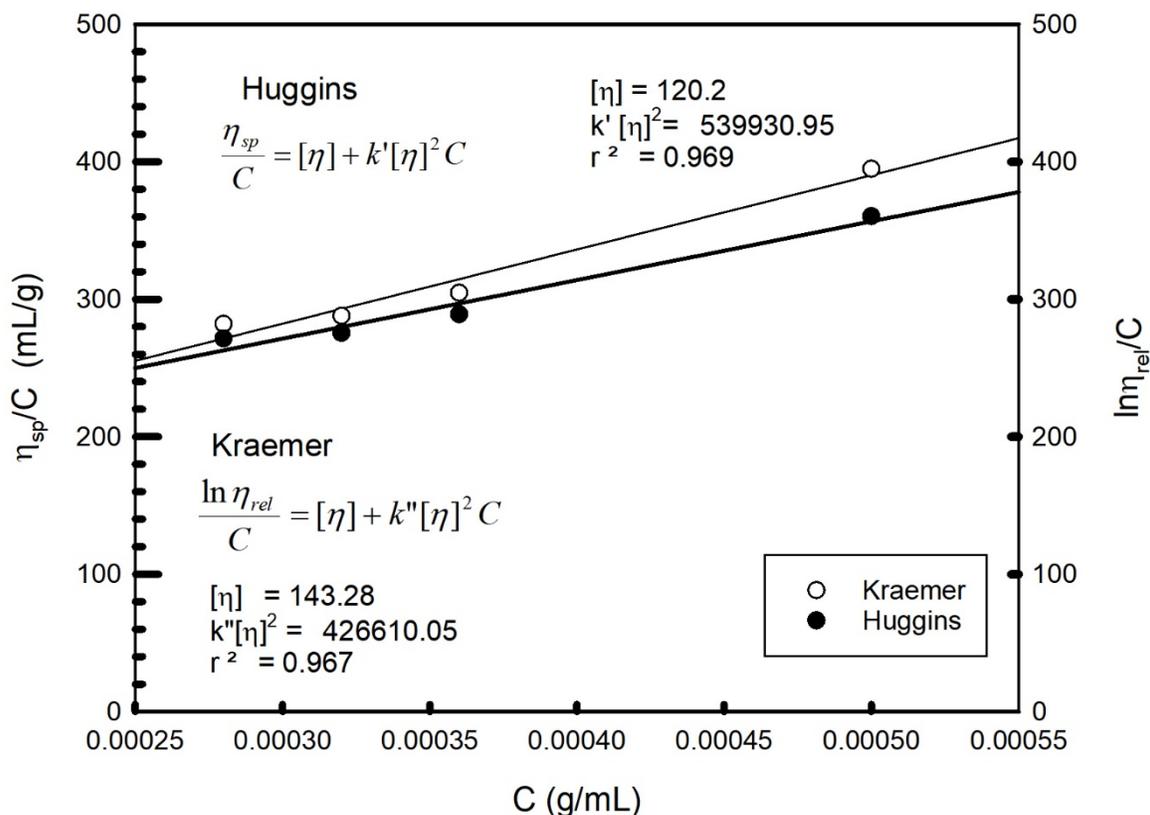


Figura 20 Determinación de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de soluciones de polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna a 25 °C. Se muestran los resultados de los parámetros de las ecuaciones de Kraemer (○) y Huggins (●).

La constante de Huggins (k') está relacionada con la conformación del polímero. Se ha reportado que para conformaciones de esfera rígida, el valor de k' es de 0.69 y en condiciones de solvente ideal $k'=0.5$. El valor de k' disminuye con la calidad del solvente. Por otra parte, si ocurre la agregación de las cadenas de polímero, causará que el valor de k' aumente. En muchos trabajos reportados en la literatura no se reportan los valores de k' o k'' . La determinación de viscosidad intrínseca para polisacáridos aniónicos es un reto, la selección de concentraciones y su concentración debe hacerse correctamente para evitar cambios conformacionales que generen resultados erróneos del radio hidrodinámico del polisacárido en solución. Para un polímero “enrollado” o en conformación de “ovillo al azar” (random

coil), como es el caso de las pectinas, la determinación de los parámetros k' , k'' y $[\eta]$ es muy complicado, ya que se puede presentar un “encogimiento” de la macromolécula conforme su concentración en solución se incrementa o una expansión de ésta cuando la fuerza iónica no es suficiente para eliminar repulsiones electrostáticas. He aquí la explicación del por qué se han encontrado valores del coeficiente k' muy elevados. Los parámetros de las ecuaciones de Huggins y Kraemer para el polisacárido péctico de tuna se presentan en el Cuadro 11, y se comparan con otras pectinas de diversas fuentes.

La constante de Huggins es considerada como un índice de las interacciones polímero-polímero, generalmente tiene valores en el rango de 0.3 (para un buen solvente) y 1.0, si se obtiene valores altos de esta constante, son atribuidos a asociaciones entre la macromolécula (Da Silva y Rao, 1992). Como se puede observar en el Cuadro 11, para el caso del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna, el valor de la viscosidad intrínseca se encuentra en el rango de las que reportan los distintos autores para las diversas fuentes, pero al consultar los valores de las constantes de Huggins y Kraemer, los valores que presenta este polímero son extremadamente elevados por lo tanto es posible asumir la existencia de interacciones entre las cadenas del polisacárido. Los valores altos de $[\eta]$, k' y k'' también pueden indicar la formación de agregados de alto masa molar, como se han reportado en mucilago de cactus (Cárdenas et al., 2008). La presencia de dichos agregados proporciona una idea errónea del volumen hidrodinámico de la molécula por lo que es necesario ajustar la carga iónica del soluto con la finalidad de neutralizar las cargas de la molécula de pectina.

Cuadro 11 Viscosidad intrínseca $[\eta]$, constante de Huggins (k') y constante de Kraemer (k'') determinadas en distintos polisacáridos pécticos.

Polisacárido	Condiciones experimentales	$[\eta]$ (mL/g)	M_w (kDa)	k' (-)	k'' (-)	Referencia
Pectina de <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.5 M 25°C	840	NR	0.86	NR	Madjoub et al., 2001
Pectina de girasol	NaCl 0.1 M 25 °C	287	38.1			Iglesias y Lozano, 2004
Pectina de girasol	NaCl 0.1 M 25 °C	232.5	62.3			Iglesias y Lozano, 2004
Pectina cítrica	NaCl 0.2 M 35 °C±0.02 °C	330	226			Yoo et al., 2006
Pectina de <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.1 M 25 °C	234	NR	NR	NR	Cárdenas et al., 2008
Polisacárido péctico de cáscara <i>Opuntia littoralis</i>	NaCl 0.1 M 25 °C	654	NR	NR	NR	Majdoub et al., 2010
Polisacárido péctico de cáscara <i>Opuntia ficus-indica</i>	NaCl 0.1 M 25 °C	290	NR	NR	NR	Majdoub et al., 2010
Pectina de cáscara de <i>Akebia trifoliata</i> var. <i>australis</i>	Buffer de fosfato de sodio 0.1M 20 °C pH 7	158±2	45.4	2.3×10 ⁻⁵	NR	Jiang et al., 2012
Pectina de <i>Akebia trifoliata</i> var. <i>australis</i>	Buffer de fosfato de sodio 0.1M 20 °C pH 7	109±1	28.9	2.3×10 ⁻⁵	NR	Jiang et al., 2012
Pectina de Okra	NaCl 0.1 M 20 °C pH 7	271	NR	0.49	NR	Kontogiorgos et al., 2012
Polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (<i>Opuntia albicarpa</i> Sheinvar)	NaCl 0.3 M 25 °C	131.74	---	37.37	20.78	Presente trabajo

7.6 Propiedades de superficie

7.6.1 Medición de la tensión superficial en soluciones acuosas de pectina de cáscara de tuna.

En la actualidad, el origen de las propiedades emulsionantes de la pectina sigue siendo controvertido (Alba & Kontogiorgios, 2017; Pi et al., 2019). El fundamento con mayor peso indica que la proteína contenida en la estructura del poliacárido (pectina) ancla la cadena de pectina en la fase oleosa y proporciona estabilidad a corto plazo, mientras que la porción de carbohidratos se extiende alrededor de la gota para mantener la estabilidad a largo plazo de la emulsión (Karnik & Wicker, 2018). En general se considera que la fuente de actividad interfacial está relacionada con la hidrofobicidad de las proteínas estructurales de la pectina, los ésteres metílicos y acetílicos, y el ácido ferúlico (Alba y Kontogiorgos, 2017). Además, también se han propuesto varios modelos de interfase aceite-agua, incluido el “modelo de adsorción de pectina en bucle y cola” (Leroux et al., 2003), el “modelo de adsorción multicapa” (Siew & Williams, 2008), el “modelo de anclaje de proteína” y el “modelo de adsorción de cola de carbohidratos salientes” (Kirby, MacDougall, & Morris, 2006). Existe una suposición implícita de que las proteínas contribuyen a la actividad interfacial de la pectina (Kirby et al., 2006).

La pectina se reconoce cada vez más como un eficaz emulsionante alimentario (Alba y Kontogiorgos, 2017; Méndez et al., 2021; Neckebroeck et al., 2020, 2021; Ngouémazong, Christiaens, Shpigelman, Van Loey y Hendrickx, 2015), por lo que retomando el análisis de la pectina de cáscara de tuna, el estudio de las propiedades de superficie del polisacárido extraído de cáscara de tuna comenzó en 2010, con una breve estancia en el Laboratorio de Reología y Propiedades Funcionales de la Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, UNAM, analizando el polisacárido sin clarificar, posteriormente en el 2011 se usó el polisacárido clarificado; para efectos de este trabajo se analizarán ambos resultados con la finalidad de comparar y/o complementar la información. En el 2010, se usó polisacárido péctico de tuna sin clarificar y únicamente se analizaron las concentraciones que se muestran en el Cuadro 12. Durante la medición de la

densidad se observó que a partir de la concentración de 0.8% (p/v), ya no fue posible hacer que la solución fluyera, además de que se encontraban burbujas dentro de la misma solución por lo que se cizallaron las soluciones justo antes de hacer la medición de densidad para fluidificar la solución, además de lograr incorporar más burbujas que a su vez atrajeran a las burbujas más pequeñas a la superficie.

Cuadro 12 Densidades de soluciones acuosas de polisacárido sin clarificar extraído de cáscara de tuna (PPTSC). Determinaciones realizadas a 20 °C en el año 2010.

Concentración de PPTSC (% v/v)	Densidad a 20 °C (g/cm³)
0.4	0.9983
0.5	0.9988
0.6	0.9993
0.7	1.0001
0.8	1.0004
0.85	1.0005
0.9	1.0008
1.0	1.0014
1.1	1.0020

Una vez que se midió la densidad de las soluciones, se procedió a medir la tensión superficial dinámica, para el caso de las pruebas de PPTSC se midió la tensión de las soluciones recién preparadas y la tensión de las soluciones después de haber sido refrigeradas a 4 °C durante 48 - 72 horas. Las soluciones de PPTSC mostraron una importante disminución de la tensión superficial con respecto a la del agua (Figura 20); la tensión superficial disminuyó a medida que se incrementó la concentración del polisacárido, ya que la tensión superficial más baja se obtuvo con polisacárido al 1.0 %. Para el 2011, el polisacárido se clarificó y se analizaron las distintas concentraciones que se muestran en el Cuadro 13.

Cuadro 13 Densidades de soluciones acuosas de polisacárido extraído de cáscara de tuna clarificado PPTC. Determinaciones realizadas a 20 °C en el 2011.

Concentración (%) (v/v)	Densidad (g/cm ³) a 20 °C
0.05	0.9987
0.06	0.9987
0.07	0.9988
0.08	0.9988
0.09	0.9989
0.10	0.9989
0.12	0.9989
0.14	0.9990
0.16	0.9990
0.18	0.9991
0.20	0.9991
0.22	0.9991
0.24	0.9992
0.26	0.9992
0.28	0.9993
0.30	0.9993
0.32	0.9993
0.34	0.9994
0.36	0.9995
0.38	0.9997
0.40	0.9997
0.50	1.0001
0.60	1.0004
0.70	1.0006
0.80	1.0009
0.90	1.0014
1.00	1.0017
Agua	0.9979

El proceso de clarificación ayudó a eliminar fracciones insolubles, y por ende se dedujo que parte de la proteína presente en la estructura de la pectina fue eliminada en este proceso por lo que, precisamente este polisacárido clarificado es el que se usó para los posteriores análisis.

La actividad interfacial de la pectina está relacionada con la presencia de restos proteicos que actúan como anclajes hidrofóbicos que facilitan la adsorción de cadenas de pectina en la interfaz reduciendo la tensión superficial. Sin embargo, la

accesibilidad y la naturaleza química de la proteína, incluida la composición de aminoácidos y su conformación, son los principales determinantes de esta actividad (Alba y Kontogiorgos, 2017; Ngouémazong et al., 2015). De hecho, los anclajes de proteínas en las cadenas de pectina en la interfaz están sostenidos por grupos acetilo y metilo y, cuando está disponible, ácido ferúlico.

Una vez adsorbida, la pectina también podría contribuir a la estabilidad de la emulsión a largo plazo mediante efectos estéricos y/o electrostáticos. La pectina adsorbida forma gruesas capas hidratadas en la interfaz aceite-agua, creando un impedimento estérico que aumenta la estabilidad de la emulsión al prevenir la coalescencia de las gotas (Alba y Kontogiorgos, 2017; Ngouémazong et al., 2015). Estos efectos estéricos se atribuyen principalmente a las cadenas laterales del elemento estructural ramnogalacturonano-I (RG-I) en el polímero de pectina. Además de los efectos estéricos, las gotas de aceite estabilizadas por pectina también pueden experimentar interacciones electrostáticas. Los residuos de ácido galacturónico cargados negativamente dan a la pectina su carácter polianiónico. Cuando la pectina se adsorbe en la interfaz aceite-agua, crea una capa cargada negativamente alrededor de las gotas de aceite, lo que genera fuerzas electrostáticas de repulsión entre las gotas de aceite emulsionadas, aumentando así la estabilidad de la emulsión contra la agregación. (Figura 21). Generalmente, la fracción proteica (Akhtar et al., 2002; Funami et al., 2007, 2011; Leroux et al., 2003; Williams et al., 2005), el ácido ferúlico (Chen, Fu y Luo, 2016), los grupos metilo (Schmidt, Koch, et al., 2015; Verkempinck et al., 2018) y acetilo (Leroux et al., 2003; Schmidt, Koch, et al., 2015), desempeñan un papel importante en las actividades emulsionantes de la pectina, mientras que las propiedades estabilizadoras de la emulsión del polímero están controladas por el dominio homogalacturonano (HG), las cadenas laterales de azúcar neutro del elemento estructural RGI y los demás parámetros relacionados. Sin embargo, las cadenas laterales de azúcares neutros pueden dificultar la accesibilidad de las especies hidrofóbicas en la pectina a la interfaz aceite-agua, limitando su capacidad emulsionante. Además, la contribución del dominio HG a la estabilización de la emulsión puede depender de la proporción de HG a RGI en el polímero (Alba y Kontogiorgos, 2017).

Emulsión O/W estabilizada con pectina

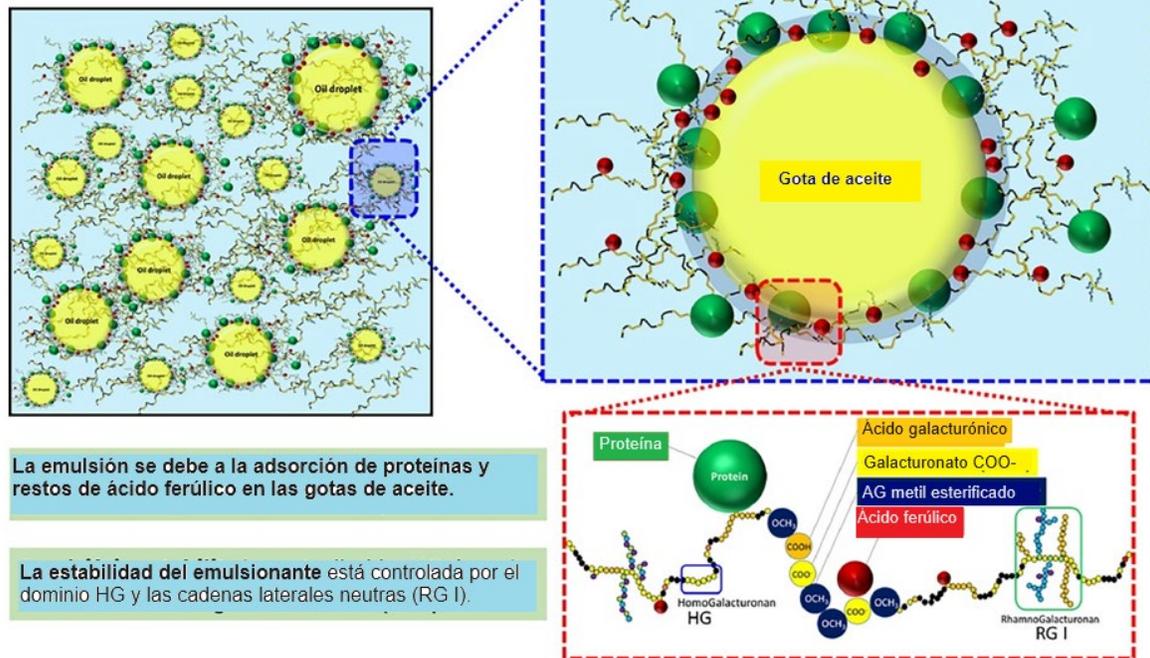


Figura 21 La presencia de restos proteicos y unidades ferúlicas unidas covalentemente al esqueleto de pectina puede adsorberse en la interfaz aceite-agua. El valor alto de Mw de las pectinas permite estabilizar la emulsión aumentando la viscosidad de la fase continua (Modificado de Assifaoui et al., 2024).

Investigaciones recientes demostraron que la pectina es capaz de adsorberse en la interfaz aceite-agua y puede considerarse un polímero tensioactivo (Funami et al., 2011; Schmidt, et al., 2015; Verkempinck et al., 2018). Además, la pectina adsorbida puede estabilizar las gotas de aceite contra la coalescencia de dos maneras distintas. Partes de las cadenas de pectina y/o ramas de la estructura de pectina que sobresalen de la interfaz hacia la fase acuosa continua aumentan la estabilidad de la emulsión por impedimento estérico. En segundo lugar, los residuos de ácido galacturónico no metoxilado de las cadenas de pectina pueden cargarse negativamente a valores de pH más altos. La repulsión electrostática entre cadenas de pectina adsorbidas en diferentes gotas de aceite también puede contribuir a la estabilidad a largo plazo (Funami et al., 2007, 2011; Ngouémazong et al., 2015). La pectina que se ha estudiado ampliamente debido a sus propiedades tensioactivas

es la de remolacha azucarera. En 2003 Leroux et al., (cuadro 14) compara el comportamiento de dicha pectina con respecto a una goma que ya se ha comprobado que tiene propiedades tensioactivas como es la goma arábica. Cabe resaltar que en el caso de pectina de remolacha azucarera se analizó con una concentración de 2% logrando bajar la tensión superficial hasta 19.7 mN/m, mientras que la goma arábica alcanzó valores de 19.7 mN/m pero con concentraciones de 15%. Sin embargo, en el presente trabajo, la pectina de cáscara de tuna se usó con una concentración de 1 %, logrando bajar el valor a 32 mN/m.

Cuadro 14 Valores de tensión superficial encontrados con otros biopolímeros estabilizadores de emulsiones.

Estabilizante de emulsiones	Concentración	Condiciones de Solución	Tensión superficial (mN/m)	Referencia
Pectina de remolacha azucarera	2 % p/p	Fase oleosa: aceite de parafina pH: 3.8 usando buffer de citrato de sodio y ácido cítrico 0.02 M	19.7	(Leroux et al., 2003)
Goma arábica	15 % p/p	Solución acuosa	19.7	Citado por (Leroux et al., 2003)
Pectina de cáscara de tuna	1 % p/p	Solución acuosa	32	Presente trabajo

Cabe destacar que en el caso de la solución de 1% ya presentaba un comportamiento menos fluido que el que reportan la pectina de remolacha azucarera, esto podría deberse a que la adsorción de esta pectina cargada negativamente en la interfaz aceite-agua crea una capa cargada negativamente alrededor de las gotas de aceite que induce fuerzas electrostáticas de repulsión

entre las gotas de aceite emulsionadas, lo que aumenta la estabilidad de la emulsión contra la agregación (Ngouémazong et al., 2015).

La Figura 22 muestra los valores de tensión superficial en la interfase fluida en función del tiempo. A bajas concentraciones de polisacárido péctico sin clarificar se observa que los valores de tensión superficial van disminuyendo lentamente, conforme aumenta la concentración estos valores de la tensión superficial disminuyen más rápidamente, lo cual es razonable debido a la acumulación de moléculas en la interfase. De acuerdo con los resultados de la figura 22, es posible afirmar que el polisacárido péctico de cáscara de tuna funciona como un agente tensioactivo debido a que disminuye la tensión superficial del agua (72 mN·m). Esta disminución de la tensión superficial del agua puede ser atribuida a la adsorción de moléculas de polisacárido péctico en la interfase dinámica.

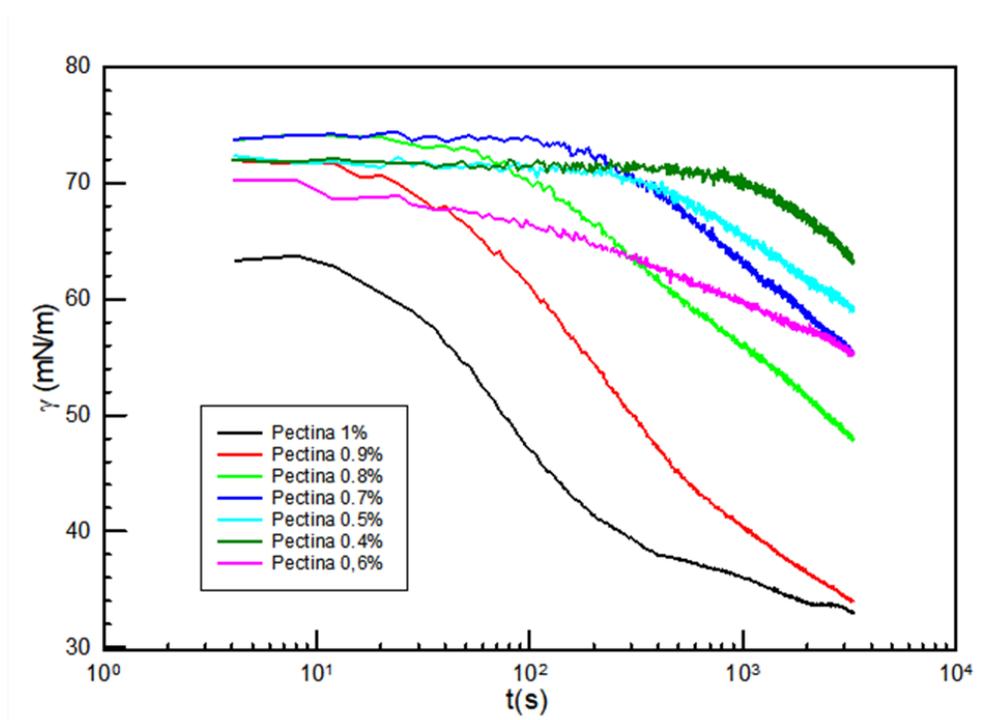


Figura 22 Comportamiento de la tensión superficial (γ) de soluciones acuosas de pectina extraída de cáscara de tuna sin clarificar desde 0.4% al 1.0 %. Determinaciones realizadas a 25 °C.

La adsorción de los tensioactivos de baja masa molar en la interfase líquido-aire se lleva a cabo siguiendo tres etapas, en la que la fuerza motriz de tal adsorción es el efecto hidrófobo de las moléculas (Norde, 2003; Pérez et al., 2007; Pérez et al., 2009b; Kralchevsky et al., 2008). Beverung et al., 1999, explica este fenómeno para proteínas, que, debido a su masa molar grande y la complejidad de su estructura, podría semejarse al comportamiento que presenta el polisacárido extraído de cáscara de tuna como se ilustra en la Figura 22, en donde se describen tres regímenes en la curva de tensión en la interfase:

I.- Los residuos hidrófobos del tensioactivo se transportan hacia la interfase (periodo de inducción), lo que provoca un decremento de la tensión superficial (Patiño et al., 2008). Los mecanismos de transporte hacia la superficie pueden ser difusión y convección, ya sea en flujo laminar o turbulento, se empiezan a posicionar las moléculas en la interfase.

II.- La concentración del tensioactivo en la interfase aumenta hasta alcanzar el estado de equilibrio, cuando la superficie se satura irreversiblemente por las moléculas adsorbidas.

III.- Las moléculas adsorbidas se colapsan y empiezan a interactuar entre ellas, formando agregados llamados micelas.

Una propiedad característica de los tensioactivos es que forman estructuras bien definidas al interactuar espontáneamente entre ellos, este fenómeno ocurre por una atracción entre los grupos hidrófobos de la molécula anfipática y una repulsión entre las partes hidrofílicas, una vez que la interfase se ha saturado. La concentración a partir de la cual se inicia la formación de estos complejos de moléculas de la misma es denominada concentración micelar crítica (CMC), este valor está asociado a las contribuciones del número de grupos polares como no polares que constituyen a la molécula anfipática. Aquellos sistemas que tengan una mayor contribución de la parte hidrófoba serán los que obtengan un menor valor, contrariamente, los que posean un mayor número de grupos hidrófilos expuestos para interactuar, les corresponderá una CMC mayor (Butt et al., 2006; Norde,

2003; Tadros, 2007). Los biopolímeros no forman micelas por lo que la concentración a la cual saturan la interfase es llamada concentración crítica de adsorción (CCA).

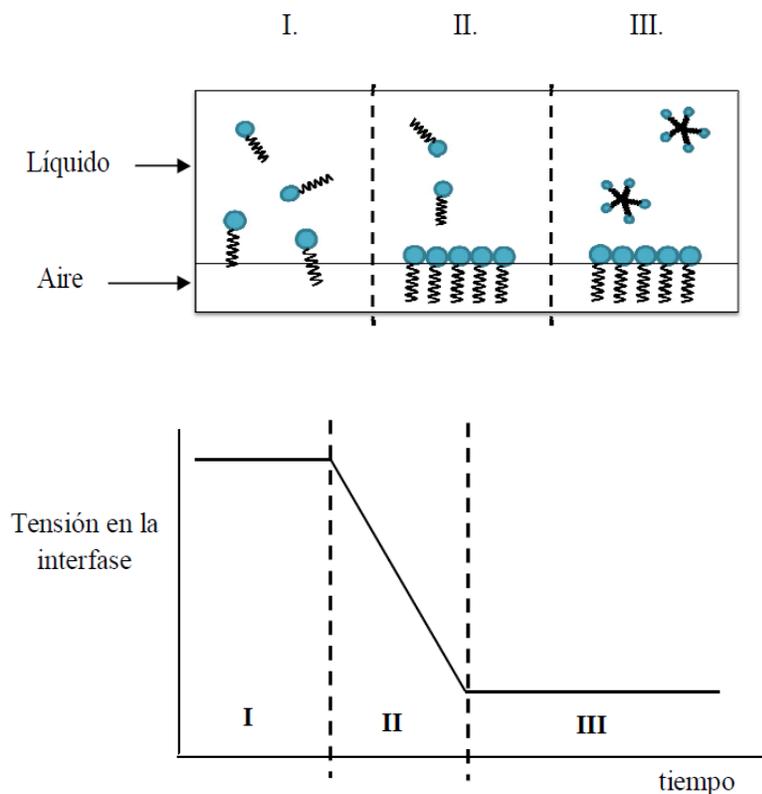


Figura 23 Representación esquemática de la adsorción (figura superior) y representación esquemática de la tensión dinámica en la interfase respecto al tiempo (Norde, 2003; Beverung et al., 1999).

A través del comportamiento de la tensión en la interfase frente a la concentración de una determinada sustancia se obtiene una curva como la que se muestra en la Figura 24, a partir de ella es posible conocer la CCA, así como su comportamiento que está directamente relacionado con la estructura química del compuesto (Butt et al., 2006). Los resultados que se muestran en la Figura 23

corresponden a los obtenidos con polisacáridos pécticos clarificados y sin clarificar. En la Figura 24 se puede observar que a una concentración de 0.18 % cambia ligeramente la pendiente de la línea de datos, lo cual hace suponer que es posible que a partir de esta concentración se encuentre la CCA. Llama la atención que una vez pasando la CCA del polisacárido, los valores de tensión en la interfase disminuyen, debido a que las moléculas del polisacárido forman multicapas bajo la capa interfacial que interaccionan entre sí, con lo que se ve favorecido el decremento de la tensión en la interfase (Butt et al., 2006).

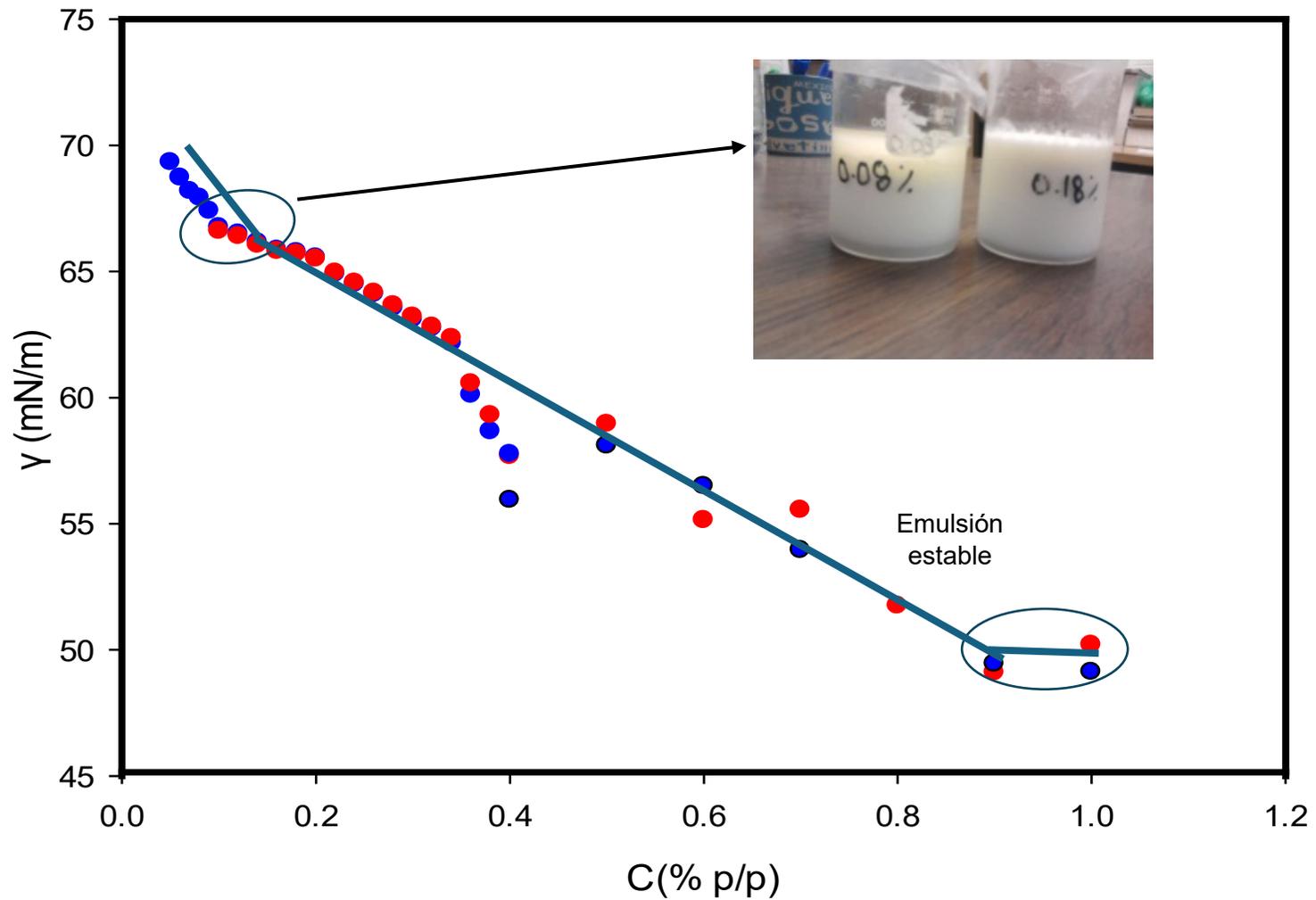


Figura 24 Comportamiento de los valores de tensión superficial (γ) de soluciones acuosas de polisacárido péctico de tuna con respecto a la concentración. Los símbolos azules corresponden al polisacárido clarificado y los símbolos rojos al polisacárido sin clarificar. Determinaciones realizadas a 25°C.

7.7 Medición de la estabilidad de emulsiones

Se evaluó la estabilidad de emulsiones aceite-agua (O/W) con 0.1 y 0.18 % de polisacárido péctico clarificado. Estas emulsiones presentaron separación de fases inmediatamente después de elaborarse, así que se procedió a elaborarse una emulsión con una concentración de pectina de 1.0% y darle el seguimiento adecuado. El análisis de la estabilidad de la emulsión O/W, se realizó con un equipo Turbiscan®, el cual permite identificar los mecanismos de pérdida de estabilidad de una emulsión: floculación, coalescencia, cremado y sedimentación principalmente. La Figura 25 muestra el comportamiento que presentó la emulsión elaborada con 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite de cártamo, Oleico®, México). Las mediciones que se presentan fueron las tomadas por las primeras 28 horas después de haberse elaborado la emulsión. Como se puede observar, la emulsión se mantuvo estable durante las primeras 28 horas, ya que no muestra desestabilización alguna hasta este tiempo; mientras que en la Figura 24 se muestra el comportamiento de la misma emulsión, pero después de 1200 horas, cabe señalar que la muestra de la Figura 25 y de la Figura 26 es la misma solo que se metió a refrigerar después de 28 horas para poder conservar la muestra.

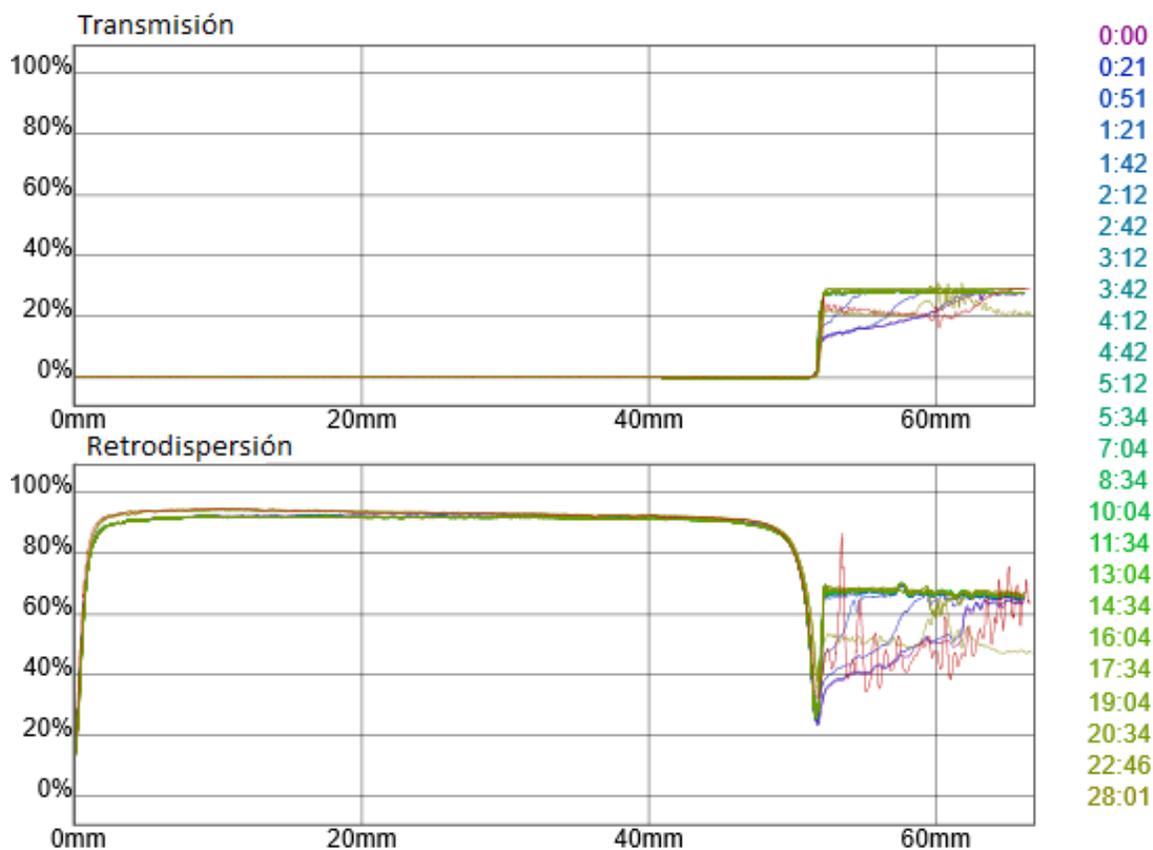


Figura 25 Barrido de transmisión y retrodispersión de la luz en la emulsión elaborada 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite de cártamo, Oleico®, México), mediciones realizadas a 25°C.

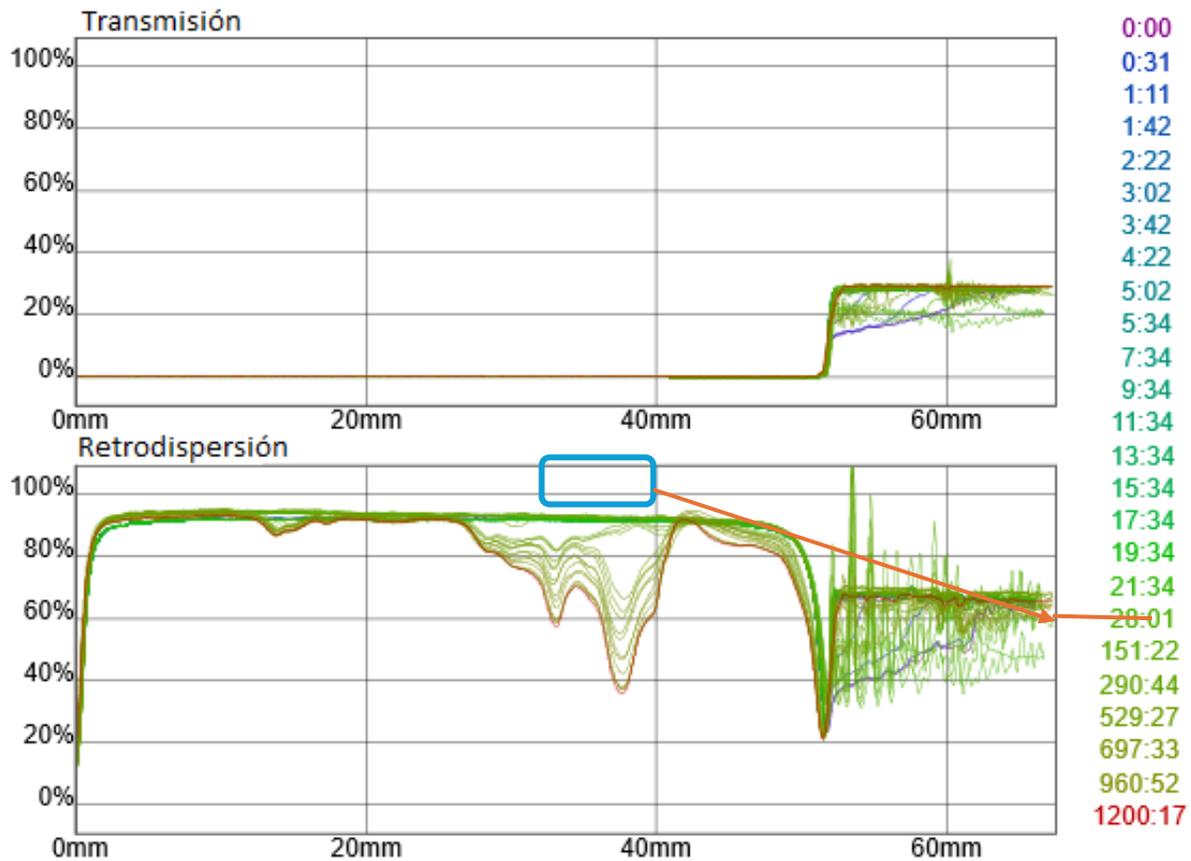


Figura 26 Barrido de transmisión y retrodispersión de luz en la muestra de emulsión elaborada con PPTC refrigerada después de 28 horas la emulsión se elaboró con 70% de solución acuosa de polisacárido péctico de tuna (PT) (1% (p/p)) con 30% de fase oleosa (aceite cártamo, Oleico®, México).

En las figuras 25 y 26, en la columna de la derecha se indica el tiempo que transcurrió midiendo la estabilidad de la emulsión, comenzando con el tiempo 0 (línea morada) que indica la medición que se realizó en cuanto se colocó la emulsión en el tubo, hasta las 1200 h (línea roja), conforme avanzó el tiempo de medición la emulsión comenzó a desestabilizarse, a partir de las 151 horas (recuadro naranja de la figura 26), las gotas de aceite comienzan a coalescer, lo que indica que las gotas de aceite se unen para formar una sola gota de mayor tamaño, es decir, la emulsión formada con PPTC es estable solamente durante cierto tiempo ya que posteriormente comenzarán a agregarse las gotas de grasa. Sin embargo, no se encontró en la bibliografía alguna emulsión que haya tenido seguimiento hasta este

tiempo, por lo tanto, no se puede comparar con emulsiones estabilizadas con otro polisacárido.

La pectina de remolacha azucarera enfrenta el inconveniente de una estabilizad emulsionante ineficiente dentro de 30 días o incluso menos (Jung & Wicker, 2012; Williams et al., 2005). Como resultado general del análisis de la emulsión por medio del dispersor de luz Turbiscan® para determinar el grado de desestabilidad, se puede establecer que la emulsión es estable al menos durante 150 h y por lo tanto es posible usar la pectina extraída de cáscara de tuna al 1% para estabilizar emulsiones O/W. Esta estabilidad de las emulsiones elaboradas con pectina de cáscara de tuna podría atribuirse al aumento de la viscosidad en las soluciones de pectina causado por la formación de una capa de pectina alrededor de cada gota de aceite, retrasando el fenómeno de coalescencia.

7.7.1 Reología de la emulsión

Una forma de explorar la rapidez de reordenamiento estructural de un fluido complejo es imponerle un flujo oscilatorio de pequeña amplitud. Este tipo de flujo aplica una pequeña deformación sinusoidal, con toda precisión y control. Los materiales que son viscoelásticos tienen dos tipos de módulos, G' representa el módulo de almacenamiento de energía elástica y G'' es el módulo de pérdida de disipación viscosa de energía.

En la Figura 27 se muestra la evolución de los módulos G' y G'' , con la frecuencia de oscilación de la emulsión O/W (70/30) examinada en Turbiscan® después de 28 h de preparación. Como se puede observar la emulsión se comporta como un líquido viscoso en el intervalo de frecuencias de 0.1-100 rad/s. Es decir, el módulo de almacenamiento es más pequeño que el módulo de pérdida. El módulo de pérdida (G'') de la emulsión aumentó de 0.12 Pa (0.1 rad/s) hasta 7.89 Pa (en 100 rad/s). Por su parte, el módulo de almacenamiento (G') varió desde 0.035 Pa (0.1 rad/s) hasta 12.35 Pa (en 100 rad/s), sin embargo, se mantiene el carácter viscoso como predominante. A medida que se aumenta la frecuencia, el

comportamiento elástico comienza a aumentar, hasta que se efectúa un entrecruzamiento, lo que da como resultado que a altas frecuencias (100 rad/s) predomina el carácter elástico; esto indicaría que, a altas frecuencias de oscilación o tiempos cortos de observación, en el sistema predomina el comportamiento elástico debido probablemente a la presencia de gotas dispersas de aceite en un medio acuoso viscoso. Para verificar la estabilidad de la emulsión es necesario evaluar las propiedades viscoelásticas en función del tiempo, de forma paralela a la medición de tensión superficial o estabilidad en Turbiscan®.

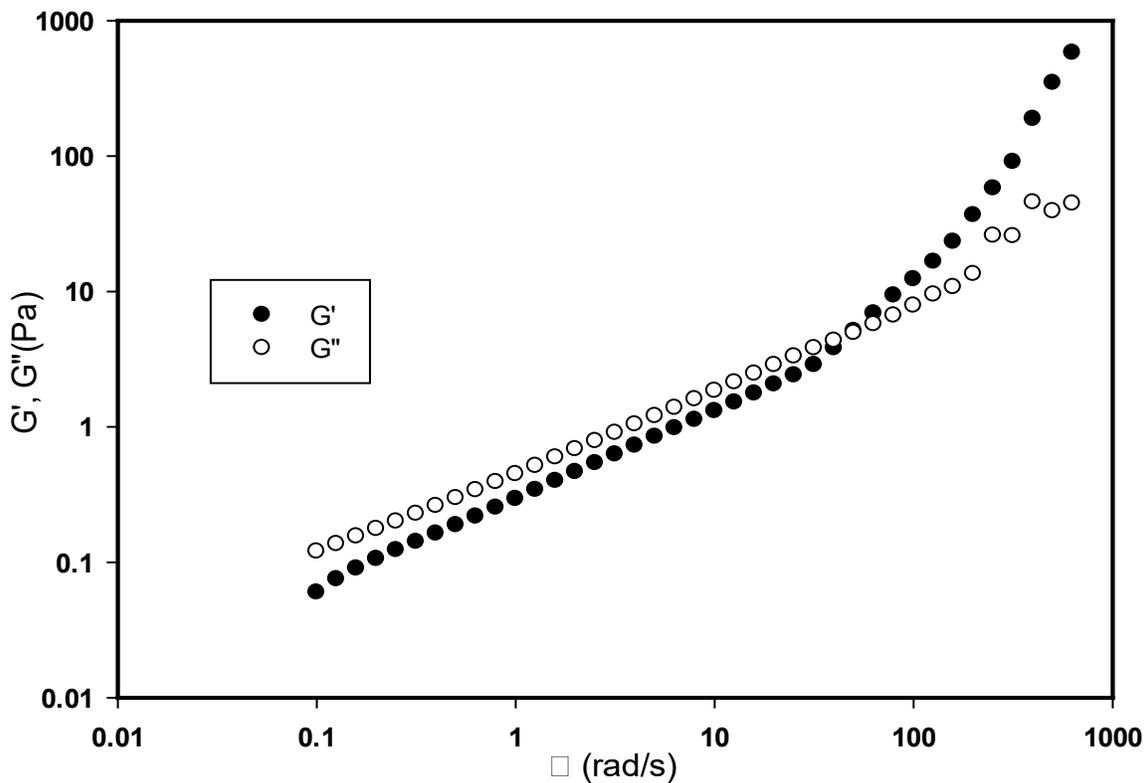


Figura 27 Propiedades viscoelásticas de la emulsión con 1 %. Las determinaciones fueron realizadas a 25 °C.

Las emulsiones de pectina suelen exhibir un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento, lo que significa que su viscosidad disminuye al aumentar la velocidad de cizallamiento. Esta característica es beneficiosa en el

procesamiento y aplicación, ya que permite un manejo y aplicación más fácil de las emulsiones. Por ejemplo, las emulsiones estabilizadas con pectinas de alto peso molecular muestran una mayor viscosidad, lo que ayuda a prevenir la coalescencia de las gotas y mejora la estabilidad (Shuai et al., 2022; Mendez et al, 2021). Las evaluaciones reológicas de las emulsiones de pectina han demostrado que el límite elástico y el módulo elástico aumentan cuando se convierten las emulsiones en emulgeles, lo que indica una estructura de gel más fuerte. Esta transición está influenciada por la concentración de pectina y la relación aceite-agua, y las formulaciones óptimas exhiben una mayor estabilidad y propiedades texturales deseables.

Las emulsiones estabilizadas con pectina tienen importantes aplicaciones en productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos. La capacidad de adaptar las propiedades reológicas de estas emulsiones mediante la selección de tipos de pectina específicos permite el diseño de productos con las texturas y estabilidad deseadas (Shuai et al., 2022; Mendez et al, 2021). En resumen, la interacción entre las características estructurales de la pectina y las propiedades reológicas resultantes de las emulsiones es crítica para su aplicación en diversas industrias. Comprender estas relaciones permite el diseño racional de emulsionantes para lograr propiedades funcionales específicas.

8. Conclusiones

- El polisacárido péctico de tuna clarificado (PPTC) es una pectina de bajo metoxilo con grupos acetilo ($0.74\% \pm 0.002\%$) y una fracción de proteína ($0.92 \pm 0.03\%$) en su estructura.
- El análisis de espectroscopía de infrarrojo demostró una estructura de polisacárido péctico con un grado de metil esterificación de 18.33%.
- El polisacárido péctico de tuna tiene 5 fracciones con una masa molecular de 12.60×10^5 g/mol (41.18%), 9.80×10^5 g/mol (4.29 %), 5.08×10^5 g/mol (32.65%), 4.19×10^5 (5.91%) y 6.6×10^3 (15.94%).
- La pectina de tuna presentó un valor de viscosidad intrínseca de 131.74 mL/g por lo tanto es posible que presente en solución una estructura muy ramificada debido a que su radio hidrodinámico es pequeño comparado con las masas molares determinadas.
- PPTC es un polisacárido viscosificante, gelificante y con propiedades de superficie.
- PPTC presentó valores de tensión superficial similares a las obtenidas en polisacáridos emulsificantes (arábica, pectina de remolacha). Las concentraciones de PT $>0.5\%$ resultaron apropiadas para su uso como emulsificante.
- Las emulsiones realizadas con PT 1.0 % fueron estables al menos durante 30 días.
- El bajo contenido de grupos acetilo (0.74%) y el contenido de proteína (0.92%) presente en el polisacárido péctico, le confiere al polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna grupos hidrofóbicos para actuar como emulsificante.

9. Recomendaciones

Para continuar el estudio de las propiedades de superficie de los polisacáridos pécticos de tuna, se sugieren los siguientes estudios:

- Examinar distintas concentraciones de NaCl para la determinación de viscosidad intrínseca del polisacárido péctico de tuna (PT).
- Medir la tensión superficial para las concentraciones de PT: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0% en tiempos más prolongados, ya que en bibliografía se han llegado a reportar hasta 7 días para permitir que se alcance el equilibrio.
- Elaborar emulsiones con concentraciones que vayan de 0.7a 1.0 % y evaluar su estabilidad durante más tiempo en el Turbiscan®.
- Evaluar la distribución del tamaño de gota en las emulsiones para poder complementar la información que se obtuvo durante el presente trabajo con las emulsiones estabilizadas con PT.
- Ampliar el estudio de viscoelasticidad de las emulsiones formadas con PT.
- Evaluar el comportamiento viscoelástico de la interfase formada por medio de reología dilatacional

9. Referencias Bibliográficas

Akhtar, M., Dickinson, E., Mazoyer, J., & Langendorff, V. (2002). Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, 16, 249-256.

Akusu, O.M.; Chibor, B.S.; Mastanjevic, K., (2020). Pectin Strength of Common Varieties of Plantain Peels Used in the Production of Jam/Marmalade. *Asian Food Sci. J.*, 19, 1–9.

Alade OS, Mahmoud M, Al Shehri DA, Sultan AS., (2021). Rapid Determination of Emulsion Stability Using Turbidity Measurement Incorporating Artificial Neural Network (ANN): Experimental Validation Using Video/Optical Microscopy and Kinetic Modeling. *ACS Omega*. 18;6(8):5910-5920. doi: 10.1021/acsomega.1c00017. PMID: 33681629; PMCID: PMC7931393.

Alba, K., & Kontogiorgos, V. (2017). Pectin at the oil-water interface: Relationship of molecular composition and structure to functionality. *Food Hydrocolloids*, 68, 211-218. doi:10.1016/j.foodhyd.2016.07.026

Alba, K., MacNaughtan, W., Laws, A. P., Foster, T. J., Campbell, G. M., & Kontogiorgos, V. (2018). Fractionation and characterisation of dietary fibre from blackcurrant pomace. *Food Hydrocolloids*, 81, 398-408. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.03.023

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Alara, J.A., Ukaegbu, C.I., Tade, M.O., Ali, H.A. (2023). Biosurfactants as Emulsifying Agents in Food Formulation. In: Aslam, R., Mobin, M., Aslam, J., Zehra, S. (eds) *Advancements in Biosurfactants Research*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-21682-4_8

Albersheim, P., Darvill, A. G., O'Neill, M. A., Schols, H. A., Voragen, A. G. J., (1996). Progress in Biotechnology. En "Pectin and Pectinases", P. Albersheim, A. G. Darvill, M. A. O'Neill, H. A. Schols, A J. Visser, A. G. J. Voragen (eds). Elsevier. Ámsterdam, pp. 47-55.

Alita P., (2023). Hydrocolloids Market Size, Share & Growth Report 2023-2030.

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

Anton Paar, (2014). Documentación técnica. Consultado el 24 de junio, 2014. Disponible en https://websrv.mece.ualberta.ca/intranet/public.php/research_inventory/display_research_inventory_file/id/128

Aveyard, B. (2019). Capillarity, wetting, and surface (interfacial) tension. In B. Aveyard (Ed.), *Surfactants: In Solution, at Interfaces and in Colloidal Dispersions*: Oxford University Press. Retrieved from doi:10.1093/oso/9780198828600.003.0003

Baïssisse S, Fahloul D. (2018). Rheological behavior and electrokinetic properties of pectin extracted from pumpkin (*Cucurbita maxima*) pulp and peel using hydrochloric acid solution. *Chem Pap.*;72(10):2647–58.

Barnes G.T., Gentle I. R., (2005). *Interfacial Science an Introduction* (1ª Edición). Oxford, New York, pp. 120-145.

Beverung C. J., Radke C. J., Blanch H. W., (1999). Protein adsorption at the oil/water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamics interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 81, 59-80.

Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V., Grossiord, J.-L., & Agnely, F. (2012). Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *Int J Pharm*, 436(1), 359-378. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.052

Brejnholt, S. M. (2010). Pectin. In: *Food Stabilizers, Thickeners and Gelling Agents*. Imeson, A. (Ed.), Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 237-265.

Butt H. J., Graf K., Kappl M., (2006). *Physics and chemistry of interfaces 2º Republic Federal, Germany*. Wiley-VCH.

Cárdenas, A., Goycoolea, F. M., & Rinaudo, M. (2008). On the gelling behaviour of 'nopal' (*Opuntia ficus indica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73(2), 212-222. doi:10.1016/j.carbpol.2007.11.017

Chanamai, R., & McClements, D. J. (2002). Comparison of Gum Arabic, Modified Starch, and Whey Protein Isolate as Emulsifiers: Influence of pH, CaCl₂ and Temperature. *J Food Sci*, 67(1), 120-125. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11370.x

Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A., & Gupta, A. (2022). Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. *Foods*, 11(17). doi:10.3390/foods11172683

Chen, H., Qiu, S., Gan, J., Liu, Y., Zhu, Q., & Yin, L. (2016). New insights into the functionality of protein to the emulsifying properties of sugar beet pectin. *Food Hydrocolloids*, 57, 262-270. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.005

Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020). Food-Grade Pickering Emulsions: Preparation, Stabilization and Applications. *Molecules*, 25(14). doi:10.3390/molecules25143202.

Corredig, M; Kerr, W; Wicker, L., (2000). Molecular characterisation of commercial pectins by separation with linear mix gel permeation columns in-line with multi-angle light scattering detection. *Food Hydrocoll*, 14, 41–47.

Costa, C., Medronho, B., Filipe, A., Mira, I., Lindman, B., Edlund, H., & Norgren, M. (2019). Emulsion Formation and Stabilization by Biomolecules: The Leading Role of Cellulose. *Polymers (Basel)*, 11(10). doi:10.3390/polym11101570.

Cubero, N., Monferrer, A., & Villalta, J. (2002). Aditivos Alimentarios. In *Aditivos Alimentarios* (pp. 157-173). Madrid, España: Ediciones Mundi Prensa.

Dalgleish, D. G. (2006). Food emulsions—their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloids*, 20(4), 415-422. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.10.009.

Da Silva, J. A. L., Rao, M. A., (1992). Viscoelastic properties of food hydrocolloid dispersions. En “Viscoelastic properties of foods”, M. A. Rao, J. F. Steffe (eds). Elsevier Applied Science, London, UK, pp. 285-315.

Dea, I. C. M., & Madden, J. K. (1986). Acetylated pectic polysaccharides of sugar beet. *Food Hydrocolloids*, 1(1), 71-88. doi:https://doi.org/10.1016/S0268-005X(86)80009-1.

Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.

Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473-1482. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.08.005

Dickinson, E. (2010). Double Emulsions Stabilized by Food Biopolymers. *Food Biophysics*, 6(1), 1-11. doi:10.1007/s11483-010-9188-6.

Duan, X., Yang, Z., Yang, J., Liu, F., Xu, X., & Pan, S. (2021). Structural and Emulsifying Properties of Citric Acid Extracted Satsuma Mandarin Peel Pectin. *Foods*, 10(10). doi:10.3390/foods10102459.

Endreß, H. U., & Christensen, S. H. (2009). 12 - Pectins. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of Hydrocolloids (Second Edition)* (pp. 274-297): Woodhead Publishing.

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, 231-234.

Fraeye, I., Doungla, E., Duvetter, T., Moldenaers, P., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2009). Influence of intrinsic and extrinsic factors on rheology of pectin–calcium gels. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2069-2077. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.03.022.

Funami, T., Zhang, G., Hiroe, M., Noda, S., Nakauma, M., Asai, I., et al. (2007). Effects of the proteinaceous moiety on the emulsifying properties of sugar beet pectin. *Food Hydrocolloids*, 21(8), 1319–1329. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.10.009>.

Funami, T., Nakauma, M., Ishihara, S., Tanaka, R., Inoue, T., & Phillips, G. O. (2011). Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.017>.

Garnier, C., Axelos, M. A. V., & Thibault, J.-F. (1993). Phase diagrams of pectin-calcium systems: Influence of pH, ionic strength, and temperature on the gelation of pectins with different degrees of methylation. *Carbohydr Res*, 240, 219-232. doi:[https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)84185-9](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84185-9).

Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. *Polymers (Basel)*, 10(7). doi:10.3390/polym10070762.

Grein, A., da Silva, B. C., Wendel, C. F., Tischer, C. A., Sierakowski, M. R., Moura, A. B., . . . Riegel-Vidotti, I. C. (2013). Structural characterization and emulsifying properties of polysaccharides of *Acacia mearnsii* de Wild gum. *Carbohydr Polym*, 92(1), 312-320. doi:10.1016/j.carbpol.2012.09.041.

Habibi, Y., Heyraud, A., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2004). Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydr Res*, 339(6), 1119-1127. doi:10.1016/j.carres.2004.02.005.

Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2005). Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 205-213. doi:10.1016/j.carbpol.2005.01.001.

Iglesias, M. T., & Lozano, J. E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 215-223. doi:10.1016/s0260-8774(03)00234-6.

Jiang, Y., Du, Y., Zhu, X., Xiong, H., Woo, M. W., & Hu, J. (2012). Physicochemical and comparative properties of pectins extracted from *Akebia trifoliata* var. australis peel. *Carbohydrate Polymers*. doi:10.1016/j.carbpol.2011.09.064.

Jung, J.; Wicker, L. 2012: Laccase mediated conjugation of heat treated β -lactoglobulin and sugar beet pectin *Carbohydrate Polymers* 89(4): 1244-1249.

Karnik, D., Jung, J., Hawking, S., & Wicker, L. (2016). Sugar beet pectin fractionated using isopropanol differs in galacturonic acid, protein, ferulic acid and surface

hydrophobicity. *Food Hydrocolloids*, 60, 179-185.
doi:10.1016/j.foodhyd.2016.03.037.

Karnik, D., & Wicker, L. (2018). Emulsion stability of sugar beet pectin fractions obtained by isopropanol fractionation. *Food Hydrocolloids*, 74, 249-254.
doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.041_

Kiong Siew, C., & Williams, P. A. (2008). Role of protein and ferulic acid in the emulsification properties of sugar beet pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4164-4171.

Kirby, A. R., MacDougall, A. J., & Morris, V. J. (2006). Sugar Beet Pectin–Protein Complexes. *Food Biophysics*, 1(1), 51-56. doi:10.1007/s11483-006-9005-4.

Kontogiorgos, V., Margelou, I., Georgiadis, N., & Ritzoulis, C. (2012). Rheological characterization of okra pectins. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 356-362.
doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.003.

Košťálová, Z., Hromádková, Z., & Ebringerová, A. (2013). Structural diversity of pectins isolated from the Styrian oil-pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) fruit. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 163-171.
doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.017.

Kpodo, F. M., Agbenorhevi, Jacob K., Alba, K., Bingham, Richard, Oduro, I. N., Morris, Gordon and Kontogiorgos, Vassilis (2017). Pectin isolation and characterization from six okra genotypes. *Food Hydrocolloids*, 72. pp. 323-330. ISSN 0268-005X.

Kpodo, F. M., Agbenorhevi, J. K., Alba, K., Oduro, I. N., Morris, G. A., & Kontogiorgos, V. (2018). Structure-Function Relationships in Pectin Emulsification. *Food Biophys*, 13(1), 71-79. doi:10.1007/s11483-017-9513-4.

Kralchevsky P. A., Denkov N. D., (2008). Chemical Physics of colloid systems and interfaces. En “Handbook of surface and Colloid Chemistry”, K. S. Birdi (ed), 3er Edition. New York, E. U. A., CRC Press.

Lapasin, R., & Prici, S. (1995). *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications*. Reino Unido: Springer Science.

Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 17(4), 455-462.
doi:10.1016/s0268-005x(03)00027-4.

Li, G., Wang, F., Wang, M.-M., Tang, M.-T., Zhou, T., & Gu, Q. (2022). Physicochemical, structural and rheological properties of pectin isolated from citrus canning processing water. *Int J Biol Macromol*, 195, 12-21.
doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.203.

Lira-Ortiz, A. L. (2009). *Estudio químico y reológico de polisacáridos tipo pectina extraídos de la cáscara de tuna (Opuntia spp.)*. (Ingeniero Agroindustrial), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Lira-Ortiz, A. L. (2016). *Comportamiento reológico de pectinas de tuna (Opuntia albicarpa S.) en solución acuosa*. (Maestría), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo.

Lira-Ortiz, A. L., Reséndiz-Vega, F., Ríos-Leal, E., Contreras-Esquivel, J. C., Chavarría-Hernández, N., Vargas-Torres, A., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2014). Pectins from waste of prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa* Scheinvar 'Reyna'): Chemical and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 37, 93-99. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.10.018.

Long Bai, S. H., Zhiguo Li, David Julian McClements. (2017). Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. *Food Hydrocolloids*, 66. doi:10.1016/j.foodhyd.2016.12.019.

Lozada-Carbajal, M. A. (2007). *Extracción y caracterización reológica de polisacáridos tipo pectina de la cáscara de tuna (Opuntia spp.)*. (Ingeniero Agroindustrial), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo.

Lunin V.V., Wang H.-T., Bharadwaj V.S., Alahuhta M., Peña M.J., Yang J.-Y., Archer-Hartmann S.A., Azadi P., Himmel M.E., Moremen K.W., York W.S., Bomble Y.J., Urbanowicz B.R., (2020) Molecular mechanism of polysaccharide acetylation by the arabidopsis xylan O-acetyltransferase XOAT1. *Plant Cell*. 32(7):2367–2382.

Majdoub, H., Picton, L., Cerf, D., & Roudesli, S. (2010). Water Retention Capacity of Polysaccharides from Prickly Pear Nopals of *Opuntia ficus indica* and *Opuntia littoralis*: Physical–Chemical Approach. *Journal of Polymers and the Environment*, 18(4), 451-458. doi:10.1007/s10924-010-0159-2.

Majdoub, H., Roudesli, S., & Deratani, A. (2001). Polysaccharides from prickly pear peel and nopals of *Opuntia ficus-indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behaviour. *Polymer International*, 50, 552-560.

Manrique, G. D., & Lajolo, F. M. (2002). FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 25(1), 99-107. doi:https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00160-0.

Masuelli, M. A. (2011). Viscometric study of pectin. Effect of temperature on the hydrodynamic properties. *Int J Biol Macromol*, 48(2), 286-291. doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.11.014.

Masuelli, M. A. (2018). Intrinsic Viscosity Determination of High Molecular Weight Biopolymers by Different Plot Methods. Chia Gum Case. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*, 6(1), 13-25. doi:10.12691/jpbpc-6-1-2.

May, C. D. (2000). Pectins. In W. P. A. Philips G.O. (Ed.), *Handbook of hydrocolloids* (pp. 169-178). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.

McComb, E. A., & McCready, R. M. (1957). Determination of Acetyl in Pectin and in Acetylated Carbohydrate Polymers. *Analytical Chemistry*, 29(5), 819-821. doi:10.1021/ac60125a025.

Melton, L. D., & Smith, B.G. (2001). Determining the Degree of Methylation and Acetylation of Pectin. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp. E3.4.1 - E3.4.6): John Wiley & Sons, Inc.

Mendez, Fabra, Martínez-Abad, Martínez-Sanz, Gorria, & López-Rubio. (2021). Understanding the different emulsification mechanisms of pectin: Comparison between watermelon rind and two commercial pectin sources. *Food Hydrocolloids*, 120. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106957>.

Morales-Martínez, Y., López-Cuellar, M. d. R., Chavarría-Hernández, N., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2018). Rheological behaviour of acetylated pectins from cactus pear fruits (*Opuntia albicarpa* and *O. matudae*). *Food Hydrocolloids*, 85, 110-119. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.07.009.

Nadar, C. G., Arora, A., & Shastri, Y. (2022). Sustainability Challenges and Opportunities in Pectin Extraction from Fruit Waste. *ACS Engineering Au*, 2(2), 61-74. doi:10.1021/acseengineeringau.1c00025.

Neckebroeck B., Verkempinck S.H.E., Vaes G., Wouters K., Magnée J., Hendrickx M.E., Van Loey A.M.(2020). Advanced insight into the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of carrot pectin subdomains. *Food Hydrocoll.* 102:105594. doi: 10.1016/j.foodhyd.105594.

Neckebroeck, B., Verkempinck, S. H. E., Van Audenhove, J., Bernaerts, T., de Wilde d'Estmael, H., Hendrickx, (2021). Structural and emulsion stabilizing properties of pectin rich extracts obtained from different botanical sources. *Food Research International*, 141, 110087. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110087>.

Ngouemazong, E. D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2015). The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 705–718. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12160>.

Norde W., (2003). *Colloids and interfaces in life sciences*. New York, E. U. A. Marcel Dekker.

Oosterveld, A., Beldman, G., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2000). Characterization of arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides and hemicelluloses from sugar beet pulp. *Carbohydr Res*, 328(2), 185-197. doi:[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)00095-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)00095-1).

Ovodov, Y. S. (2009). Current views on pectin substances. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 35(3), 269-284. doi:10.1134/s1068162009030017.

Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1–6.

Patiño J. M. R., Sánchez C. C., Niño M. R. R., (2008). Implications of interfacial characteristics of food foaming agents in foam formulation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 140(2), 95-113.

Pappas, C. S., Malovikova, A., Hromadkova, Z., Tarantilis, P. A., Ebringerova, A., & Polissiou, M. G. (2004). Determination of the degree of esterification of pectinates with decyl and benzyl ester groups by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and curve-fitting deconvolution method. *Carbohydrate Polymers*, 56(4), 465-469. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.03.014>.

Pauly M., Ramírez V., (2018), New insights into wall polysaccharide O-acetylation. *Front Plant Sci*. 9:1210. doi: 10.3389/fpls.2018.01210.

Peighambardoust, S. H., Jafarzadeh-Moghaddam, M., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., & Domínguez, R. (2021). Physicochemical, Thermal and Rheological Properties of Pectin Extracted from Sugar Beet Pulp Using Subcritical Water Extraction Process. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(5), 1413.

Pérez E. O., Sánchez C. C., Pilosof M. R. A., Patiño R. J. M., (2007). Adsorption dynamic and surface activity at equilibrium of whey proteins and hydroxypropyl-methyl-cellulose mixtures at the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 21, 794-803.

Pérez E. O., Sánchez C. C., Pilosof M. R. A., Patiño R. J. M. (2009b). Cinética de adsorción de proteínas de suero de leche y mezclas de hidroxipropilmetilcelulosa en la interfaz aire-agua. *Journal of Colloid and Interface Science*, 336, 485-496.

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.

Pi F, Liu Z, Guo X, Guo X, Meng H. Chicory root pulp pectin as an emulsifier as compared to sugar beet pectin. Part 1: Influence of structure, concentration, counterion concentration. *Food Hydrocolloids*. 2019; 89:792–801. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.061>.

Rao, M. A. (2014). *Rheology of Fluid, Semisolid and Solid Foods. Principles and Applications* (Third ed.). New York: Springer.

Renard, C. M. G. C., Jarvis, M.C. (1999). Acetylation and methylation of homogalacturonans 2: effect on ion-binding properties and conformations. *Carbohydrate Polymers*, 39, 209-216.

Reséndiz-Vega, F. (2010). *Evaluación de las propiedades gelificantes de polisacáridos pécticos de tuna (Opuntia albicarpa S.) de potencial aplicación como aditivos alimentarios*. (Licenciatura), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

Ridley, B. L., O'Neill, M. A., Mohnen, D., (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57 (6), 929-967.

Riyamol, Gada-Chengaiyan, J., Rana, S. S., Ahmad, F., Haque, S., & Capanoglu, E. (2023). Recent Advances in the Extraction of Pectin from Various Sources and Industrial Applications. *ACS Omega*, 8(49), 46309-46324. doi:10.1021/acsomega.3c04010.

Rivera-Hernández, L., Chavarría-Hernández, N., Tecante, A., López-Ortega, M. A., López Cuellar, M. d. R., & Rodríguez-Hernández, A.-I. (2023). Mixed gels based on low acyl gellan and citrus pectin: A linear viscoelastic analysis. *Food Hydrocolloids*, 137. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108353.

Rodríguez-Hernández, A. I., & Chavarría-Hernández, N. (2021). Novel Pectins from Prickly Pear (*Opuntia albicarpa*) Fruits: Structural Features and Rheological Properties. In M. F. Ramadan, T. E. M. Ayoub, & S. Rohn (Eds.), *Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications* (pp. 525-540). Cham: Springer International Publishing.

Rodríguez-Hernández, A. I., & Chavarría-Hernández, N. (2021). Novel pectins from prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa*): structural features and rheological properties. In *Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications*: Springer International Publishing.

Roman-Benn, A., Contador, C. A., Li, M.-W., Lam, H.-M., Ah-Hen, K., Ulloa, P. E., & Ravanal, M. C. (2023). Pectin: An overview of sources, extraction and applications in food products, biomedical, pharmaceutical and environmental issues. *Food Chemistry Advances*, 2, 100192. doi:https://doi.org/10.1016/j.focha.100192.

Sabater, C., Villamiel, M., & Montilla, A. (2022). Integral use of pectin-rich by-products in a biorefinery context: A holistic approach. *Food Hydrocolloids*, 128, 107564. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107564.

Said, N.S.; Olawuyi, I.F.; Lee, W.Y. (2023), Pectin Hydrogels: Gel-Forming Behaviors, Mechanisms, and Food Applications. *Gels*, 9, 732. <https://doi.org/10.3390/gels9090732>.

Saffarionpour, S. (2019). Nanoencapsulation of hydrophobic food flavor ingredients nanoencapsulation of hydrophobic food flavor ingredients. *Food Bioprocess Tech.* 12, 1157–1173. DOI: 10.1007/s11947-019-02285-z.

Salima, B., Seloua, D., Djamel, F., & Samir, M. (2022). Structure of pumpkin pectin and its effect on its technological properties. *Applied Rheology*, 32, 34-55.

Sayah, M. Y., Chabir, R., Benyahia, H., Rodi Kandri, Y., Ouazzani Chahdi, F., Touzani, H., & Errachidi, F. (2016). Yield, Esterification Degree and Molecular Weight Evaluation of Pectins Isolated from Orange and Grapefruit Peels under Different Conditions. *PLoS One*, 11(9), e0161751. doi:10.1371/journal.pone.0161751.

Sengkhampan N., Bakx E.J., Verhoef R., Schols H.A., Sajjaanantakul T., Voragen A.G. (2009,). Okra pectin contains an unusual substitution of its rhamnosyl residues with acetyl and alpha-linked galactosyl groups. *Carbohydr* 344:1842–1851. doi: 10.1016/j.carres.2008.11.022.

Schmidt, U. S., Schmidt, K., Kurz, T., Endreß, H. U., & Schuchmann, H. P. (2015). Pectins of different 720 origin and their performance in forming and stabilizing oil-in-water-emulsions. *Food Hydrocolloids*, 46, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.012>

Shuai, X., Chen, J., Liu, Q., Dong, H., Dai, T., Li, Z., Liu, C., & Wang, R. (2022). The Effects of Pectin Structure on Emulsifying, Rheological, and *In Vitro* Digestion Properties of Emulsion. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(21), 3444. <https://doi.org/10.3390/foods11213444>.

Siew, C. K., & Williams, P. A. (2008). Role of protein and ferulic acid in the emulsification properties of sugar beet pectin. (0021-8561 (Print)).

Singhal, S., & Swami Hulle, N. R. (2022). Citrus pectins: Structural properties, extraction methods, modifications and applications in food systems – A review. *Applied Food Research*, 2(2), 100215. doi:<https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100215>

Smidsrød, O., & Haug, A. (1971). Estimation of the relative stiffness of the molecular chain in polyelectrolytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. *Biopolymers*, 10(7), 1213-1227. doi:<https://doi.org/10.1002/bip.360100711>.

Soto-Romero, L. (2019). *Evaluación de la capacidad emulsificante de pectina de tuna (Opuntia albicarpa S.): Efecto de la proteína estructural*. (Maestría), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo.

Evaluación de las propiedades de superficie del polisacárido péctico extraído de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa* Sheinvar). 101

Sriamornsak, P. (1999). Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8, pp. 221-227.

Tadros T. F., (2007). Colloid stability. The role of Surface forces part I. Republic Federal, Germany. Wiley VCH.

Thiraviam, V., & Mahejibin, K. (2019). Role of Pectin in Food Processing and Food Packaging. In M. Martin (Ed.), *Pectins* (pp. Ch. 4). Rijeka: IntechOpen.

Verkempinck, S. H. E., Kyomugasho, C., Salvia-Trujillo, L., Denis, S., Bourgeois, M., Van Loey, A. M., et al. (2018). Emulsion stabilizing properties of citrus pectin and its interactions with conventional emulsifiers in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 85, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.014>.

Voragen, A. G. J., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 20(2), 263-275. doi:10.1007/s11224-009-9442-z.

Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97-104. doi:10.1016/j.tifs.2005.10.008.

Williams, P. A., Sayers, C., Viebke, C., Senan, C., Mazoyer, J., & Boulenguer, P. (2005). Elucidation of the Emulsification Properties of Sugar Beet Pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3592-3597. doi:10.1021/jf0404142.

Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356-1364. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.012.

Yoo, S.-H., Fishman, M. L., Hotchkiss, A. T., & Lee, H. G. (2006). Viscometric behavior of high-methoxy and low-methoxy pectin solutions. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 62-67. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.03.003.