



**Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

**TESIS DE MAESTRÍA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y  
ANTIMICROBIANA DE  
PECTINAS DE TUNA (*Opuntia albicarpa*)**

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

Presenta

Carolina Burgos González

**Directora**

Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández

**Codirector**

Dr. Norberto Chavarría Hernández

**Comité tutorial:**

Dra. Ma del Rocío López Cuellar

Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez



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

**COORDINACION DE INVESTIGACION 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 la actividad antioxidante y antimicrobiana de pectinas de tuna (*Opuntia albicarpa*)", que desarrolla la estudiante Carolina Burgos González

**Asistentes:**

- Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández
- Dr. Norberto Chavarría Hernández
- Dra. Ma del Rocío López Cuellar
- Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez

**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, Carolina Burgos González, 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 28 de septiembre de 2018

- Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández
- Dr. Norberto Chavarría Hemández
- Dra. Ma del Rocío López Cuellar
- Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez



*(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 ext. 2425  
[maestria\\_alimentos@uaeh.edu.mx](mailto:maestria_alimentos@uaeh.edu.mx)

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

## Índice

Índice .....	1
Índice de Tablas.....	4
Índice de Figuras.....	5
Resumen.....	6
Abstract.....	8
1.    Introducción .....	9
2.    Marco teórico .....	10
2.1.  Tuna ( <i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar) .....	10
2.2.  Pectina.....	11
2.2.1.  Estructura química de la pectina.....	11
2.2.1.1.  Homogalacturonano .....	12
2.2.1.2.  Galacturonanos sustituidos con cadenas laterales.....	13
2.2.1.2.1.  Apigalacturonano .....	13
2.2.1.2.2.  Xilogalacturonano.....	14
2.2.1.3.  Ramnogalacturonano II .....	14
2.2.1.4.  Ramnogalacturonano I .....	14
2.2.1.5.  Ácido ferúlico .....	15
2.2.2.  Propiedades y usos de las pectinas .....	16
2.2.2.1.  Pectina en la industria alimentaria .....	16
2.2.2.2.  Pectina en la industria farmacéutica.....	19
2.2.2.3.  Propiedad antimicrobiana de pectinas.....	21
2.2.2.4.  Propiedad antioxidante de las pectinas .....	23

2.3.	Pectina de tuna <i>Opuntia albicarpa</i> .....	24
3.	Justificación .....	26
4.	Objetivos .....	27
4.1.	General .....	27
4.2.	Objetivos específicos .....	27
5.	Materiales y métodos .....	28
5.1.	Materiales .....	28
5.2.	Purificación de pectinas .....	28
5.3.	Caracterización química.....	31
5.3.1.	Identificación de grupos funcionales por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) .....	31
5.3.2.	Determinación de ácido galacturónico.....	31
5.3.3.	Determinación del grado de metilesterificación por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) .....	32
5.3.4.	Determinación de la masa molar de pectinas.....	33
5.3.5.	Determinación de ácido ferúlico.....	34
5.3.6.	Determinación de proteína .....	34
5.3.7.	Determinación de monosacáridos por HPLC.....	35
5.3.8.	Determinación del pK <sub>a</sub> .....	36
5.4.	Propiedades reológicas de pectinas en solución .....	37
5.5.	Determinación de actividad antioxidante de pectinas .....	38
5.5.1.	Determinación de actividad antioxidante mediante DPPH.....	38
5.5.2.	4.5.2 Determinación de actividad antioxidante mediante ABTS .....	38
5.6.	Determinación de actividad antimicrobiana de pectinas .....	39
5.6.1.	Microorganismos indicadores .....	39

5.6.2.	Concentración mínima inhibitoria.....	39
5.6.3.	Captación de cristal violeta para la evaluación de la permeabilidad de la membrana bacteriana .....	41
6.	Resultados y discusiones.....	42
6.1.	Identificación de grupos funcionales .....	42
6.2.	Caracterización química.....	44
6.2.1.	Determinación de la masa molar .....	49
6.2.2.	Determinación del pK <sub>a</sub> .....	51
6.2.3.	Viscosidad .....	53
6.3.	Actividad antioxidante .....	55
6.4.	Actividad antimicrobiana .....	57
6.4.1.	Concentración mínima inhibitoria.....	57
6.4.2.	Permeación de membrana con cristal violeta .....	61
7.	Conclusiones .....	64
8.	Referencias.....	65
Anexo A	.....	74
Anexo B	.....	75
Anexo C	.....	76
Anexo D	.....	80
Anexo E	.....	81

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Investigaciones del uso de pectinas en alimentos .....	18
<b>Tabla 2.</b> Propiedades biológicas de pectinas.....	20
<b>Tabla 3.</b> Investigaciones sobre la actividad antimicrobiana de pectinas .....	22
<b>Tabla 4.</b> Investigaciones sobre la actividad antioxidante en pectinas .....	23
<b>Tabla 5.</b> Caracterización química de pectina de tuna <i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar cv. 'Reyna' (Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández, 2021) .....	25
<b>Tabla 6.</b> Condiciones para determinar la masa molar de pectinas por GPC/SEC	33
<b>Tabla 7.</b> Condiciones experimentales para la determinación de monosacáridos por HPLC.....	35
<b>Tabla 8.</b> Concentración inicial y volumen de suspensión bacteriana adicionada a cada pozo.....	40
<b>Tabla 9.</b> Volumen de solución de pectina al 2% adicionada a cada pozo en placa ELISA.....	40
<b>Tabla 10.</b> Caracterización química de pectinas de tuna y cítrica .....	45
<b>Tabla 11.</b> Características macromoleculares de pectinas.....	49
<b>Tabla 12.</b> Parámetros del modelo reológico de Cross para pectinas de tuna .....	54
<b>Tabla 13.</b> Actividad antioxidante de pectinas de tuna (CABA 01, CABA 02) y cítrica. Se evaluaron soluciones acuosas de 4 mg/mL de pectinas. ....	56

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Tuna <i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar cv. 'Reyna' .....	10
<b>Figura 2.</b> Estructura molecular de la pectina (Freitas et al., 2021). .....	12
<b>Figura 3.</b> Estructura básica del homogalacturonano presente en las pectinas.....	13
<b>Figura 4.</b> Estructura del ácido ferúlico (Borges, Ferreira, Saavedra, & Simões, 2013).....	15
<b>Figura 5.</b> Imagen representativa de la prueba cualitativa de fenol-sulfúrico.....	29
<b>Figura 6.</b> Imágenes representativas del proceso de purificación de pectinas.....	30
<b>Figura 7.</b> Muestras para curva de calibración de ácido galacturónico .....	32
<b>Figura 8.</b> Muestra hidrolizada (a) y concentrada (b) de pectina previo al análisis de monosacáridos por HPLC. ....	36
<b>Figura 9.</b> Espectro FT-IR de pectinas de tuna (CABA 01 y CABA 02) y pectina cítrica (PC). ....	43
<b>Figura 10.</b> Cromatograma de pectinas hidrolizadas con TFA 2 M.....	48
<b>Figura 11.</b> Cromatograma de pectinas para la determinación de masa molar .....	50
<b>Figura 12.</b> Curva de titulación potenciométrica, primera y segunda derivada de pectinas. a) CABA 01 y b) CABA 02) y c) cítrica .....	52
<b>Figura 13.</b> Curva de viscosidad de pectinas de tuna y cítrica.....	54
<b>Figura 14.</b> Posibles interacciones entre la pectina y la membrana de microorganismos. ....	62
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de captación de cristal violeta de patógenos en presencia de pectinas a la concentración mínima inhibitoria .....	63

## Resumen

La pectina de tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') ha sido estudiada, su composición y propiedades tecno-funcionales (viscosificante, gelificante, emulgente, formadora de películas) se han reportado (Lira-Ortiz et al., 2014; Morales-Martínez et al., 2018; Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández, 2021). Sin embargo, sus actividades antioxidantes y antimicrobiana aún no han sido exploradas. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana de pectina extraída de tuna (*O. albicarpa*) contra microorganismos de interés alimentario. Se analizaron 2 pectinas de tuna (*O. albicarpa*) (CABA 01 y CABA 02) y una pectina cítrica comercial (PC, Genu® Kelco). Mediante el análisis FT-IR se determinó que las tres pectinas son bajo metoxilo. La caracterización química demostró la predominancia de ácido galacturónico (>65%) y la presencia de azúcares neutros (galactosa, arabinosa, arabinosa y glucosa). Además, se encontró ácido ferúlico en concentraciones de 0.25, 0.31 y 0.39 % para CABA 01, CABA 02 y PC, respectivamente, y porcentajes de proteína menores al 5.3% en su composición. El pK<sub>a</sub> de CABA 01 y CABA 02 fue 5.97, y PC mostró un valor de 4.28. Las pectinas de tuna, a una concentración del 0.4% presentaron menor porcentaje de actividad antioxidante ( $25.79 \pm 2.42$  y  $22.85 \pm 1.68$  %, para CABA01 y CABA02, respectivamente) contra el radical DPPH en comparación a PC ( $35.40 \pm 0.99$  %) a la misma concentración; sin embargo, para el radical ABTS no se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre CABA01, CABA02 y PC ( $50.43 \pm 4.03$ ,  $47.83 \pm 7.97$  y  $42.75 \pm 5.86$  %, respectivamente). Estos resultados sugieren que la pectina puede actuar como donador de protones y puede atrapar los radicales libres DPPH y ABTS debido a la presencia de ácidos urónicos y ácido ferúlico. La actividad antimicrobiana de las pectinas se evaluó mediante la determinación de su concentración mínima inhibitoria (CMI) contra diversos patógenos y se verificó a través de ensayos de permeación de membrana. Las CMI de CABA 01 fueron de 13 mg/mL para *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; 10 mg/mL para *Shigella flexneri*; 6 mg/mL para *Candida parapsilosis* y no se observó inhibición de *Salmonella* sp y *Pseudomonas aeruginosa* hasta 12 mg/mL. CMI de CABA 02 fue 8 mg/mL para *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella* sp.; 6 mg/mL para *S. flexneri* y para *C. parapsilosis*, y se observó inhibición de *P. aeruginosa* con 12 mg/mL.

Las CMI de PC fueron 4 mg/mL para *S. aureus* y *C. parapsilosis*, 6 mg/mL para *S. flexneri* y *L. monocytogenes*, 8 mg/mL para *E. coli*, 10 mg/mL para *Salmonella* sp y *P. aeruginosa* no fue inhibida con  $PC \leq 12$  mg/mL. Estos resultados sugieren que el principal mecanismo de acción antimicrobiana es la interacción entre la molécula de pectina y la pared celular microbiana a pH menores al  $pK_a$  de la pectina, sin embargo, son necesarios más estudios para dilucidar el mecanismo antimicrobiano de las pectinas. Las pectinas en estudio mostraron interesantes actividades biológicas por lo que pueden considerarse polisacáridos bioactivos prometedores.

## Abstract

Prickly pear pectin (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') has functional properties of biotechnological interest (viscosifying, gelling, emulsifying, film-forming) (Morales-Martínez et al., 2018). However, its antioxidant and antimicrobial activities have not yet been explored. The present contribution aims to assess their potential as a natural antimicrobial and antioxidant agent. Two pectins from prickly pears (PP), named CABA 01 and CABA 02, and citrus pectin (CP) (CPKelco, DE=35%) were examined. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and chemical composition analyses showed that PP and CP are low methoxyl pectins. The monosaccharide analysis of PP revealed the dominance of galacturonic acid (GalA) (> 65% w/w) with neutral sugar (galactose, arabinose, glucose, rhamnose) at varying amounts, suggesting the presence of side chains of arabinogalactan or arabinan. The ferulic acid contents were  $0.25 \pm 0.004\%$ ,  $0.31 \pm 0.001\%$ , and  $0.39 \pm 0.003\%$  for CABA 01, CABA 02 and CP, respectively. Within their composition, protein contents lower than 5.3% were found. The pK<sub>a</sub> value of both PP is 5.97, while that of CP is 4.28. Pectins (4 mg/mL) showed ABTS and DPPH radical scavenging activities of 50.4 and 25.8% for CABA 01, 22.15 and 47.8% for CABA 02, and 42.7 and 36% for PC, respectively. That activity is attributed to the GalA and ferulic acid contents. The antimicrobial activity was evaluated through the minimum inhibitory concentration and membrane permeation examination, resulting in the inhibition of the growth of the bacteria *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Shigella flexneri* and *Candida parapsilosis*. These results suggest that the primary mechanism of antimicrobial action is the interaction between the pectin molecule and the microbial cell wall at pH lower than the pK<sub>a</sub> of pectins; however, more studies are necessary to elucidate the antimicrobial mechanism of pectins. Prickly pear pectins can be considered promising bioactive polysaccharides.

## 1. Introducción

Las pectinas son biopolímeros que se encuentran en la pared celular de las plantas. Son heteropolisacáridos con estructura compleja y gran variabilidad estructural debido a las diferentes fuentes de extracción, así como el uso de diversas técnicas para su purificación, por lo que son muy versátiles funcionalmente (Rosaria Ciriminna, Fidalgo, Scurria, Ilharco, & Pagliaro, 2022). Se han reportado ampliamente las funciones biológicas (prebiótico, antitumoral, antioxidante, antimicrobiano, etc.) y tecnofuncionales (gelificante, emulsionante/estabilizador de emulsiones, espesante, formador de película, etc.) de pectinas de diversas fuentes. Actualmente las pectinas de origen cítrico, manzana y remolacha son ampliamente utilizadas en las industria alimentaria y farmacéutica (Picot-Allain, Ramasawmy, & Emmambux, 2022). En particular, para la pectina de tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') se han reportado propiedades funcionales de interés biotecnológico (viscosificante, gelificante, emulgente, formadora de películas) (Morales-Martínez et al., 2018a). Sin embargo, sus actividades antioxidantes y antimicrobianas aún no han sido exploradas.

Por otra parte, la Organización Mundial de Salud (WHO, por sus siglas en inglés) señala que la resistencia a los antibióticos es un problema a nivel mundial para la salud y seguridad alimentaria, por lo que la investigación de nuevos antimicrobianos es de urgencia. Dentro de los patógenos que la OMS considera prioritarios debido al grado de letalidad, facilidad que se transmiten y frecuencia que presentan reticencia, se encuentran *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* *Salmonella spp*, *Shigella spp.*, entre otros (WHO, 2021).

Por lo tanto, este estudio se enfocó en dilucidar si la pectina extraída de tuna (*O. albicarpa*) tiene actividad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos de interés alimentario, lo cual contribuirá a la exploración de nuevas fuentes de antimicrobianos y antioxidantes naturales con amplio potencial de uso en la industria de los alimentos, farmacéutica y de cuidado personal. Además, al ser extraída de cáscaras de tuna (desperdicios agrícolas), este biopolímero puede contribuir a la revalorización del cultivo de nopal tunero, generando productos de base biotecnológica.

## 2. Marco teórico

### 2.1. Tuna (*Opuntia albicarpa* Scheinvar)

*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna' (Figura 1), perteneciente a la familia de las Cactaceae, es una especie de origen mexicano cultivada ampliamente en la zona central de México, por lo que forma parte de la economía agrícola en esta zona (Lira-Ortiz et al., 2014). La temporada de cosecha de este fruto es julio y agosto (Rodríguez-Hernández & Chavarría-Hernández, 2021). Las tunas son fuente de compuestos funcionales como fibra, vitaminas y antioxidantes, los cuales son valorados por su aporte a una dieta saludable y como ingredientes de alimentos innovadores (Martín Del Campo et al., 2019).



**Figura 1.** Tuna *Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna'

La tuna de *Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna' (Figura 1), conocida también como cultivar 'Alfajayucan', es un fruto de forma oval que tiene una longitud de aproximadamente 8 cm y diámetro de 5 cm. Su peso es de aproximadamente 110 g y está constituida de pulpa jugosa (30 a 60%) con muchas semillas pequeñas cubierto por una cáscara delgada (40-60%) con espinas frágiles y finas. La pulpa es de color verde blanquecina y dulce con un porcentaje de sólidos totales de aproximadamente 15 %. La cáscara tiene un grosor de aproximadamente 4.5 mm y su peso es de 44 g aproximadamente. Su color varía entre verde amarillento a verde oscuro,

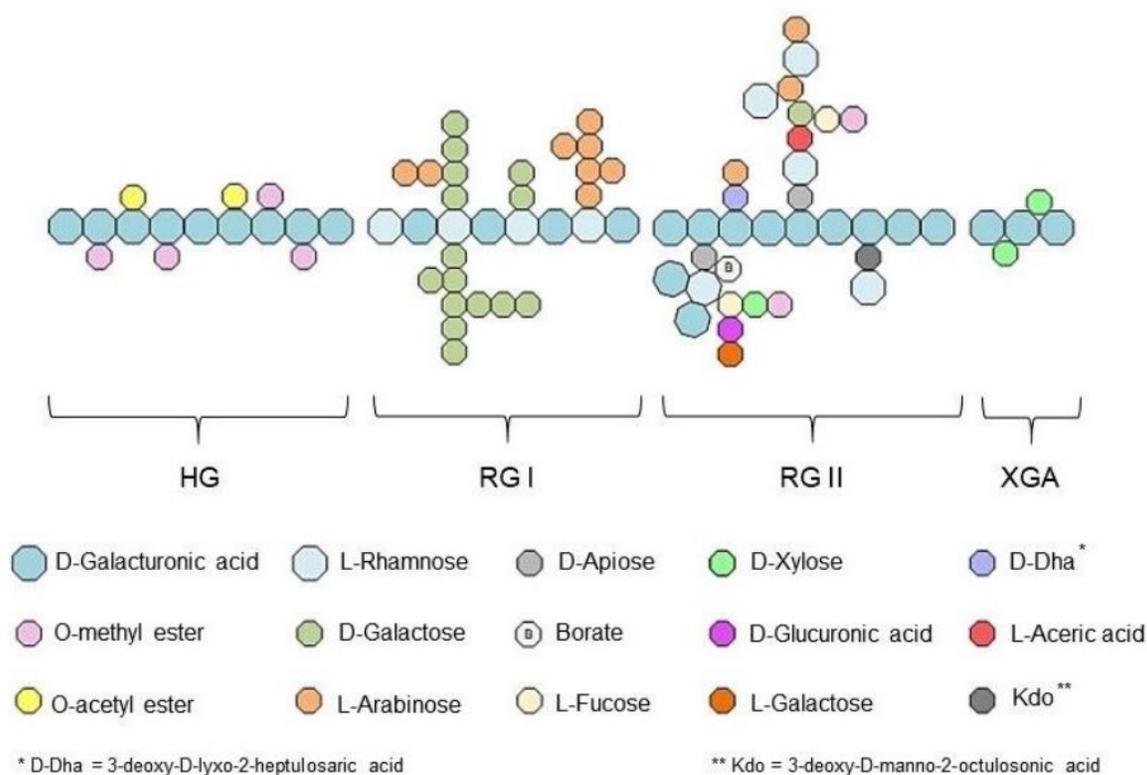
dependiendo de su estado de madurez. La cáscara de la tuna se compone principalmente de polisacáridos como pectinas, mucilagos y fibra dietética insoluble además de compuestos fenólicos (Rodríguez-Hernández & Chavarría-Hernández, 2021).

## **2.2. Pectina**

La pectina es un heteropolisacárido soluble en agua que se encuentra en la pared celular de las plantas. Contribuye a la integridad y rigidez de los tejidos y se considera una de las macromoléculas más complejas. La pectina tiene funciones en el crecimiento, morfología, desarrollo y defensa de las plantas, sirve como polímero gelificante y estabilizador en diversos alimentos y productos especiales y tiene efectos positivos en la salud humana (Mohnen, 2008). El término pectina incluye una serie de polímeros que comparten características similares, pero varían de acuerdo con su masa molar, configuración química y contenido de azúcares neutros (Wusigale, Liang, & Luo, 2020).

### **2.2.1. Estructura química de la pectina**

Químicamente, la pectina está formada por una cadena lineal de unidades de ácido D galacturónico, unidas entre sí por enlaces  $\alpha$  1,4 (homogalacturonano, HG), como se muestra en la Figura 2, y dos regiones llamadas ramnogalacturonano I (RGI) y ramnogalacturonano II (RGII) (Lara-Espinoza et al., 2021). Las unidades de ácido galacturónico pueden estar presentes como ácido libre, éster metílico o, en las pectinas amidadas, amida ácida, como se observa en la Figura 2 (Endreß & Christensen, 2009).

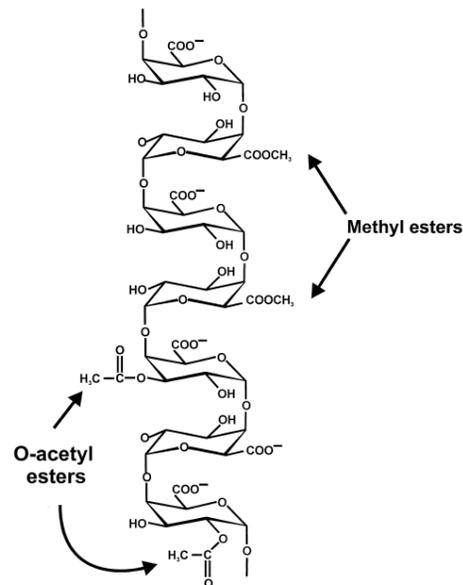


**Figura 2.** Estructura molecular de la pectina (Freitas et al., 2021).

### 2.2.1.1. Homogalacturonano

El homogalacturonano es un homopolímero lineal compuesto por ácido D-galacturónico enlazado a través de enlaces  $\alpha$ - (1,4), el cual puede estar esterificado con metilo y/o acetilo como se ilustra en la Figura 3. Generalmente en las pectinas el contenido de ácido galacturónico constituye aproximadamente el 65% del contenido total de la pectina (Mohnen, 2008). Las unidades de ácido galacturónico están parcialmente esterificadas con metilo en el carbono 6 (O-6). El grado de esterificación y la distribución de los residuos de ácido galacturónico no esterificados en los segmentos del homogalacturonano son características químicas que determinan las propiedades funcionales de la pectina (Ropartz & Ralet, 2020). La distribución de ésteres es de especial importancia ya que afecta la densidad de carga electrostática local del polímero y, por lo tanto, su interacción con otras moléculas cargadas, ya sean iones como calcio, proteínas u otras moléculas de pectina (Wusigale et al., 2020). En algunas

plantas, los residuos de ácido galacturónico en el homogalacturonano están parcialmente acetil-esterificados. Los grupos acetilos pueden unirse a cualquiera de las posiciones del anillo disponibles (O-2 y O-3) de los residuos de ácido galacturónico (Ropartz & Ralet, 2020).



**Figura 3.** Estructura básica del homogalacturonano presente en las pectinas. El carbono 6 puede estar esterificado con grupos metilo, mientras que la acetilación ocurre en carbonos 2 o 3 (Ridley, 2001).

### 2.2.1.2. Galacturonanos sustituidos con cadenas laterales

El homogalacturonano puede estar sustituido en O-2 y/o O-3 por monómeros o dímeros de apiosa o xilosa generando apigalacturonano (AG) o xilogalacturonano (XGA), respectivamente. También puede ser sustituido con cadenas laterales complejas formando ramnogalacturonano II (Alba & Kontogiorgos, 2017).

#### 2.2.1.2.1. Apigalacturonano

El apigalacturonano es un homogalacturonano rico en apiosa que se encuentra principalmente en monocotiledóneas acuáticas. Posee una cadena principal que comprende α-1,4-D-galactopiranosiluronano y sus cadenas laterales se componen de oligosacáridos Api unidos por enlace 1,2 (Lv et al., 2015).

#### **2.2.1.2.2. Xilogalacturonano**

El xilogalacturonano es un homogalacturonano sustituido solamente en O-3 por monómeros o dímeros de xilosa. Las cadenas laterales diméricas de xilosa contienen residuos de xilosa unidos por enlaces 1,4 1,2 y 1,3. La proporción de monómeros y dímeros de xilosa y el grado de sustitución varían dependiendo de las plantas (Ropartz & Ralet, 2020).

#### **2.2.1.3. Ramnogalacturonano II**

El ramnogalacturonano II es el homogalacturonano sustituido más complejo y constituye aproximadamente el 10% de la pectina. Está constituido por diferentes residuos de azúcares (de 11 a 13) y 21 enlaces glucosídicos distintos, dispuestos como una columna vertebral formada por 7 a 9 residuos de ácido galacturónico parcialmente esterificados con metilo (de ninguno a tres) y sustituidos por diferentes cadenas laterales (Chan, Choo, Young, & Loh, 2017).

Las cadenas laterales unidas a la cadena principal de homogalacturonano están formadas por 9 o 10 residuos de monosacáridos, unidos a la cadena principal de homogalacturonano a través de (2,1)  $\beta$ -D-apiofuranosa (Picot-Allain et al., 2022). En la estructura de este polisacárido se encuentran varios azúcares poco comunes, incluyendo ácido 2-ceto-3-desoxi-D-manooctulosónico, ácido 2-ceto-3-desoxi-D-lixoheptulosárico, apiosa, 2-O-metil xilosa, 2-O-metil fucosa y ácido acérico (Alba & Kontogiorgos, 2017).

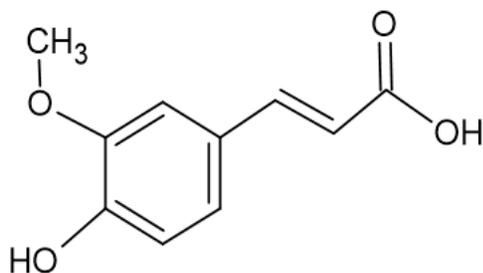
#### **2.2.1.4. Ramnogalacturonano I**

El ramnogalacturonano I representa del 20-30% de la pectina y su cadena principal consiste en unidades repetidas de ácido (1-4)- $\alpha$ -D-galacturónico-(1,2)- $\alpha$ -L-ramnosa (Wusigale et al., 2020). Se caracteriza porque del 20 al 80% de los residuos de ramnosa están sustituidos en la posición O-4 por cadenas laterales, en las que predominan arabinanos y galacturonanos. Estas cadenas varían en longitud y composición y esto depende de las fuentes de extracción, así como de la etapa de desarrollo y del método de aislamiento utilizado (Ropartz & Ralet, 2020).

Los arabinanos están constituidos por una cadena principal de residuos de L-arabinosa enlazados por  $\alpha$  (1,5), sustituidos en O-2 y/o O-3 con unidades de  $\alpha$ -L-arabinosas o con cadenas cortas de unidades de L-arabinosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1,3) (Picot-Allain et al., 2022). Dentro de la estructura del ramnogalacturonano I se han encontrado unidades de ácido ferúlico unidos a los residuos de L-arabinosa de las cadenas de arabinanos enlazadas por  $\alpha$ -(1-5) en la posición O-2 y a los residuos de ácido D-galacturónico por enlaces  $\beta$ -1,4 en la posición O-6 (Alba & Kontogiorgos, 2017).

#### 2.2.1.5. Ácido ferúlico

El ácido ferúlico o ácido 4-hidroxi-3-metoxicinámico,  $C_{10}H_{10}O_4$  es un compuesto fenólico de la clase del ácido hidroxicinámico, generado a partir del metabolismo de los aminoácidos fenilalanina y tirosina (Pinheiro et al., 2021). Su estructura se muestra en la Figura 4. Se puede encontrar en diversas fuentes naturales, como maíz, arroz, trigo, remolacha, alcachofa, café y frutos rojos, ya sea en forma libre o junto con proteínas de la pared celular y polisacáridos (Takahashi et al., 2015). El ácido ferúlico tiene propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitrombóticas, anticancerígenas, reduce el colesterol y protege contra enfermedades coronarias (Shi et al., 2016).



**Figura 4.** Estructura del ácido ferúlico (Borges, Ferreira, Saavedra, & Simões, 2013).

La actividad antimicrobiana del ácido ferúlico ha sido estudiada por diversos autores como Takahashi et al. (2015) que reportaron la inhibición del crecimiento de *Listeria monocytogenes*; Shi et al. (2016) reportaron la actividad antimicrobiana contra *Cronobacter sakazakii* y Gañan, Martínez-Rodríguez, & Carrascosa, (2009) demostraron el efecto antibacteriano del ácido ferúlico contra *Campylobacter jejuni*. Borges et al., (2013), observaron que el ácido ferúlico provoca cambios significativos en la hidrofobicidad de la superficie celular, la carga y la liberación de potasio debido a la desestabilización y permeabilización de la membrana celular, afectando principalmente a las bacterias Gram negativas, mientras que las bacterias Gram positivas fueron menos susceptibles a este compuesto fenólico.

## **2.2.2. Propiedades y usos de las pectinas**

### **2.2.2.1. Pectina en la industria alimentaria**

La pectina es un polisacárido natural que ha formado parte de la dieta de los humanos. Su uso está permitido en todo el mundo y es considerado como un aditivo seguro, además no existe límite máximo para su consumo, debe usarse de acuerdo con las buenas prácticas de manufactura (FAO, 1995). El uso de la pectina depende en gran medida de las condiciones exactas del producto, el pH, la fuerza iónica y la composición, la proporción de edulcorantes y su naturaleza y, cuando son productos a base de frutas, la cantidad y la naturaleza de la pectina proporcionada por éstas (Endreß & Christensen, 2009). Tradicionalmente, la pectina se utilizaba principalmente en la producción de mermeladas y jaleas de frutas, y en productos con alto contenido de azúcar, en los que la pectina asegura la textura deseada, limita la creación de agua/jugo en la superficie (sinéresis) y asegura una distribución uniforme de la fruta en la superficie del producto. En las últimas décadas, las propiedades espesantes, gelificantes y estabilizantes/emulsificantes de las pectinas, las han convertidos en un aditivo natural con amplias aplicaciones en la industria de los alimentos. Además, su uso se ha incrementado debido a sus propiedades tecno-funcionales. En la Tabla 1 se presentan investigaciones sobre nuevas aplicaciones en la industria alimentaria.

Las pectinas también se utilizan como base en la elaboración de películas y recubrimientos de alimentos, debido a sus propiedades como biodegradabilidad, biocompatibilidad, actividad antimicrobiana y sus propiedades físicas. Se ha demostrado que los recubrimientos de pectina alargan la vida de anaquel de los productos alimenticios mediante la inhibición de microorganismos o actuando como barrera evitando la interacción del alimento con el ambiente provocando su deterioro (Rivera et al. 2021).

Además, Donchenko et al. (2020) utilizaron pectina de manzana en la elaboración de pan debido a que la pectina ha demostrado favorecer los procesos de fermentación, y los cambios bioquímicos y microbiológicos de la masa, así mismo afecta la elasticidad del gluten. Se ha observado que la pectina mejora el volumen de la masa reteniendo gas en la masa, ayuda a retener la estructura y dificulta el proceso de envejecimiento. El aumento del volumen se debe a que aumenta la retención de la humedad y mejora las propiedades viscoelásticas de la masa por lo que el uso de las pectinas en la elaboración de pan genera una miga más suave y mejores cualidades de retención de agua.

**Tabla 1.** Investigaciones del uso de pectinas en alimentos

Uso	Objetivo	Resultados	Referencia
Películas	Películas comestibles basadas en pectina de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. para la conservación de fresas.	Las frutas empacadas con las películas presentaron reducción de un ciclo logarítmico a los 21 días de almacenamiento.	Estrada-Girón et al. (2020).
	Liberación de nisina en películas de pectina-gelana para la inhibición de <i>Listeria monocytogenes</i> .	Las películas liberaron el 81% de nisina inhibiendo el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> .	Rivera-Hernández et al. (2021).
	Películas basadas en pectina, gelana, EDTA y bacteriocinas para el control bacteriano de pescado envasado.	Las películas fueron efectivas contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> .	Pérez-Arauz et al. (2021).
	Película basada en pectina con carvacrol y cinamaldehído.	La película redujo el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> en jamón.	Ravishankar et al., (2012).
Recubrimientos	Combinación de pectina con agentes anti-oscurecimiento para recubrir manzana.	Los recubrimientos fueron efectivos y seguros para incrementar la vida de anaquel de la fruta.	Guerreiro et al. (2017).
	Recubrimientos multicapa con quitosano-pectina y extractos de menta o aceite esencial de limón para proteger trucha arcoíris.	La trucha arcoíris recubierta conservó la textura y el color, así como retrasó la oxidación.	Tabatabaei et al. (2020).
	Recubrimientos de pectina de girasol con endulzantes para extender la vida de anaquel de fresas.	Los recubrimientos alargaron 12 días la vida de anaquel.	Muñoz-Almagro et al. (2021).
	Recubrimiento de pectina con nano emulsiones de aceite de orégano y resveratrol para la conservación de lomo de puerco.	El recubrimiento alargó la vida de anaquel de lomo de puerco.	Xiong et al. (2020).
	Recubrimiento de melón con solución péctica con eugenol.	El recubrimiento redujo el crecimiento de <i>Listeria</i> en el melón durante su almacenamiento.	Çavdaroğlu et al. (2020).
	Emulsiones estabilizadas con micro geles a base de pectina.	Los micro geles se adsorbieron directamente en las interfases de las gotas de aceite, evitando que formaran nuevos aglomerados.	Isusi et al. (2021).
Estabilizante	Pectina de manzana para activación de la fermentación y procesos de acumulación de ácido en pan.	La pectina de manzana mejoró la calidad y sorción del producto terminado	Donchenko et al. (2020).
	Estabilización de yogurt bajo en grasa	La pectina de bajo metoxilo redujo la pérdida de suero, mejoró la calidad, la bioactividad y la firmeza del yogurt.	Khubber et al. (2021).

#### **2.2.2.2. Pectina en la industria farmacéutica**

Se han reportado propiedades biológicas de la pectina, las cuales incluyen actividad prebiótica, antioxidante, antimicrobiana y anticancerígena. Se ha usado en la industria farmacéutica en la formulación de tabletas, geles, hidrogeles, aerogeles y como recubridores (Picot-Allain et al., 2022). La pectina como fibra dietética proporciona diversos beneficios para la salud, que incluyen la mejora de la función intestinal, aumenta el tiempo de vaciado gástrico, reduce la absorción de la glucosa y del colesterol, así como incrementa la masa fecal. Por lo que las pectinas se utilizan como remedios eficaces para el estreñimiento. Por otra parte, la pectina y diversos oligosacáridos pécticos pueden servir como sustratos prebióticos para la microbiota intestinal humana (Chandel et al., 2022).

También la pectina ha sido usada para encapsular o como agente de administración de fármacos y componentes bioactivos, alargando sus tiempos de residencia o estabilidad. En estas aplicaciones las pectinas de alto metoxilo son usadas debido a su alta masa molar y su menor solubilidad en agua (Freitas, Coimbra, Souza, & Sousa, 2021). En la Tabla 2 se presentan algunos trabajos representativos en donde se evaluaron propiedades biológicas de pectinas.

**Tabla 2.** Propiedades biológicas de pectinas.

Propiedad	Objetivo	Resultado	Referencia
Anticancerígena	Evaluación de las propiedades anticancerígenas de pectina en células de cáncer mamario y usando un modelo animal.	La pectina induce apoptosis e inhibe el crecimiento celular.	Delphi y Sepehri (2016).
	Evaluación del efecto de pectina cítrica modificada en células de cáncer de próstata.	La pectina disminuyó significativamente el potencial invasivo y migratorio de células cancerígenas.	Conti et al. (2018).
Reductor de colesterol	Evaluación del efecto inhibitorio de pectina cítrica en la actividad de la lipasa.	La pectina cítrica inhibió la actividad de la lipasa pancreática.	Edashige et al. (2008).
Prebiótico	Pectina de betabel y limón como prebiótico.	La población de bifidobacterias y lactobacilos incrementaron en los cultivos.	Gomez et al. (2016).
Anti hiperglucémico	Evaluación del efecto anti hiperglucémico de pectina de manzana.	Reducción de la respuesta de la glucosa posprandial e incremento de la excreción urinaria de glucosa.	Makarova et al., (2014).
Anti-estreñimiento	Evaluación de la actividad anti-estreñimiento de pectina extraída de las raíces de <i>Arctium lappa</i> .	La pectina una dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg exhibió una fuerte actividad anti-estreñimiento in vivo.	Li et al., (2019).
Eliminación de metales	Síntesis de hidrogel de pectina de mandarina para la eliminación de sustancias tóxicas.	Eliminación de iones Cr (VI) y Pb (II).	Mahmoud & Mohamed (2020).

### 2.2.2.3. Propiedad antimicrobiana de pectinas

En algunos estudios se ha observado la actividad antimicrobiana de pectinas extraídas de diferentes fuentes (Tabla 3). Kumar et al; 2020 observaron que la pectina de mora logró inhibir el crecimiento de seis bacterias gram positivas y gram negativas a concentraciones de 500 y 1000 µg/mL. Presentato et al., 2020 evaluaron la actividad antimicrobiana de pectinas extraídas de cáscara de toronja y limón contra *S. aureus* y *P. aeruginosa* y observaron que estas pectinas tuvieron mayor efecto inhibitorio contra las bacterias gram positivas que contra gram negativas, obteniendo mayores concentraciones mínimas inhibitorias como se observa en la Tabla 3. Esta actividad antimicrobiana se ha atribuido a la presencia de flavonoides como nobiletina y tangeretina capaces de inhibir actividad enzimática y deteriorar la síntesis de proteínas en *P.aeruginosa* (Presentato et al., 2020)

Además, se ha demostrado que cuando la pectina es hidrolizada la actividad antimicrobiana incrementa, por ejemplo, Li et al., (2013) observaron que oligosacáridos pécticos con una masa molar entre 1 y 3 kDa mostraron mayor actividad antimicrobiana que polisacáridos mayores a 3 kDa contra *E. coli*, *B. subtilis* y *S. aureus*. Los oligómeros con menor masa molar mostraron mayores actividades antimicrobianas. Las posibles razones podrían atribuirse a los grupos carboxilo libres no disociados, los grupos metoxilo y el grado de polimerización de OGaIA (Li et al., 2016).

El mecanismo de inhibición de microorganismos por pectinas no se ha reportado, por lo que son necesarias más investigaciones sobre la actividad antimicrobiana de pectinas y polisacáridos pécticos para promover el desarrollo de productos antimicrobianos de alto valor agregado a partir de recursos residuales ricos en pectina.

**Tabla 3.** Investigaciones sobre la actividad antimicrobiana de pectinas

Origen	Actividad antimicrobiana		Referencia
	CMI (µg/mL)	Microorganismo	
Oligogalacturónidos cítricos (M <sub>w</sub> : 1 a 1.8 kDa; DE: 11.6%)	37.5	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wu et al., 2014
	150	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Jobo o “Cas mango” ( <i>Spondias dulcis</i> )	>1	<i>Salmonella enteric typhimurium</i> 2860	Zofou et al., 2019.
		<i>Salmonella enteric typhimurium</i> 2488 <i>Salmonella</i> spp <i>Salmonella choleraesuis</i>	
Mora ( <i>Morus</i> spp.)	1000	<i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Escherichia coli</i>	Kumar et al; 2020
	500	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus mutans</i>	
Oligosacáridos pécticos (POS) cítricos (M <sub>w</sub> : 1 a 3 kDa) Compuestos de glucosa, arabinosa, ácido galacturónico, galactosa y xilosa)	25,000	<i>Escherichia coli</i>	Li et al., 2016
	12,500	<i>Bacillus subtilis</i>	
	12,500	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Toronja (DE=14%)	10,000	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Presentato et al., 2020
	20,000	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Limón (DE=8%)	20,000	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Presentato et al., 2020
	40,000	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Comercial cítrica (DE=48%)	20,000	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Presentato et al., 2020
	40,000	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Pectina cítrica liofilizada (M <sub>w</sub> : 200 kDa; PHM)	0.016, pH 5	<i>Helicobacter pylori</i>	Daoud et al., 2013
	0.062, pH 6		
	0.125, pH 7		
Manzana ( <i>Pyrus malus</i> L)	700	<i>Escherichia coli</i>	Mathur et al., 2011.
	800	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	300	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	700	<i>Lactococcus</i> sp.	

CMI: Concentración mínima inhibitoria. PHM: pectina de alto metoxilo

#### 2.2.2.4. Propiedad antioxidante de las pectinas

La actividad antioxidante de las pectinas ha sido investigada por distintos autores, en la Tabla 4 se muestran estudios representativos en donde se evaluó la actividad antioxidante de pectinas extraídas de diferentes fuentes. En estos estudios, la actividad antioxidante está relacionada con la composición de monosacáridos y el grado de metilación de la pectina. Los monosacáridos presentes en la pectina son agentes reductores que pueden donar protones, los cuales pueden reaccionar con radicales y formar un componente estable frenando la reacción radicalaria (Xu et al., 2018).

**Tabla 4.** Investigaciones sobre la actividad antioxidante en pectinas

Fuente de pectina	Resultados	Referencia
Castaño de Henry, ( <i>Castanea henryi</i> )	La pectina extraída de <i>Castanea henryi</i> mostró gran potencial para eliminar el radical DPPH• <sup>+</sup> con IC <sub>50</sub> = 246.85 µg/mL.	Wei et al. (2018).
Yaca ( <i>Artocarpus heterophyllus</i> )	Se encontró un valor de IC <sub>50</sub> = 1.1 mg/mL para el radical DPPH• <sup>+</sup> .	Xu et al. (2018).
Alcachofa de Jerusalén ( <i>Helianthus tuberosus</i> )	La pectina fue capaz de atrapar el 20.9%–45.2% del radical DPPH en concentraciones de 0.5–2.5 mg/mL.	Liu, Shi, Xu, and Yi (2016).
Okra ( <i>Abelmoschus esculentus</i> L.)	La pectina mostró buena actividad antioxidante contra los radicales DPPH y ABTS.	B. Xiong et al. (2021).
Mangostán de Indonesia ( <i>Garcinia mangostana</i> L.)	La pectina de cáscara de mangostán de Indonesia mostró actividad antioxidante moderada con un valor IC <sub>50</sub> de 3.39 ± 0.20 ppm contra el radical DPPH• <sup>+</sup> .	Nasrul Wathoni et al. (2019).
Manzana	Se observaron valores IC <sub>50</sub> de 2.75-3.26 y 0.77-1.14 mg/mL contra los radicales DPPH• <sup>+</sup> y ABTS• <sup>+</sup> , respectivamente.	Wikiera, Grabacka, Byczyński, Stodolak, and Mika (2021).
Manzana	Se obtuvieron valores IC <sub>50</sub> de 9.01 y 2.45 mg/mL contra los radicales	

DPPH•+ y ABTS•+, respectivamente.

Manzana	Se obtuvieron valores IC <sub>50</sub> de 5.24 y 1.58 mg/mL contra los radicales DPPH•+ y ABTS•+, respectivamente.
Polisacárido péctico de mandarina	A una concentración de 2 mg/mL, fue capaz de inhibir el 82.5% del radical DPPH•+. Chen et al. (2016)

### 2.3. Pectina de tuna *Opuntia albicarpa*

De acuerdo con Soto-Romero (2019) la pectina de tuna *Opuntia albicarpa* posee una masa molar de 240 kDa, con poca ramificación en la cadena de ramnogalacturonano y con posibles cadenas laterales de arabinano o arabinogalactano. Está compuesta de un 69.5% de ácido galacturónico y posee un grado de metil-esterificación de 44.6%.

Los principales azúcares neutros que se encontraron en esta pectina son arabinosa, galactosa, ramnosa, glucosa y manosa como se muestra en la Tabla 5. Además, dentro de su composición se encontró proteína (Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández, 2021; Soto-Romero, 2019).

Morales-Martínez et al. (2018) investigaron el comportamiento reológico de la pectina de tuna *O. albicarpa* donde se encontró que sus soluciones acuosas presentan un comportamiento reológico no newtoniano del tipo pseudoplástico y la viscosidad de las pectinas en solución aumenta con la concentración, por lo que las interacciones físicas intermoleculares son favorecidas, entre ellas puentes de hidrogeno e interacciones hidrofóbicas, lo que lleva a una mayor resistencia al flujo. Además, en presencia de cloruro de calcio forma geles suaves y elásticos. Al incrementar la concentración de los iones de calcio, el carácter elástico de los geles se incrementa. Este comportamiento está relacionado con la estructura del polisacárido, la distribución de las masas molares, el grado de ramificación, la cantidad y distribución de los grupos cargados en la estructura determinan las propiedades reológicas de las soluciones y geles de pectinas.

**Tabla 5.** Caracterización química de pectina de tuna *Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna' (Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández, 2021)

Masa molar	240 kDa
Ácido galacturónico	69.5 % mol
Grado de esterificación	43.8 %
Grado de acetilación	10.6 %
Grado de metoxilación	44.6 %
Manosa	0.12 % mol
Ramnosa	1.8 % mol
Glucosa	0.6 % mol
Galactosa	5.7 % mol
Arabinosa	7.7 % mol
Proteína	4.4 %
Ácido ferúlico	0.36 %

### 3. Justificación

Alrededor del 51.6% del total de residuos sólidos generados en México (SEMARNAT, 2018) son los residuos orgánicos, dentro de los cuales se encuentran los residuos alimenticios. Una alternativa para disminuir el impacto ambiental generado por éstos es el aislamiento y caracterización de compuestos con actividad biológica a partir de residuos de alimentos. Por otra parte, debido a que los agentes antimicrobianos son cada vez más ineficaces, la resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema serio de salud pública (WHO, 2021), por lo que la identificación y desarrollo de nuevos antibacterianos, invulnerables a los mecanismos de resistencia bacteriana, es una necesidad urgente.

Se ha demostrado que algunas pectinas tienen actividades antimicrobianas contra bacterias patógenas o deterioradoras de alimentos. La pectina extraída de la cáscara de tuna blanca (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') tiene propiedades funcionales de interés biotecnológico (viscosificante, gelificante, emulgente, formadora de películas). Sin embargo, sus actividades antioxidantes y antimicrobianas aún no han sido exploradas, por lo que en este trabajo se busca dilucidar si la pectina extraída de tuna (*O. albicarpa*) tiene actividad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos de interés alimentario, lo cual contribuirá a la exploración de nuevas fuentes de antimicrobianos y antioxidantes naturales con amplio potencial de uso en la industria de los alimentos.

## **4. Objetivos**

### **4.1. General**

Evaluar actividad antioxidante y antimicrobiana *in vitro* de pectina de tuna (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. 'Reyna') para contribuir al desarrollo de aditivos naturales de uso alimentario.

### **4.2. Objetivos específicos**

1. Determinar la composición química-estructural de pectina extraída de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa*) mediante el análisis del contenido de ácido galacturónico, ácido ferúlico, grado de esterificación, masa molar promedio y composición de monosacáridos, en cada pectina de estudio.
2. Evaluar la actividad antioxidante de pectinas extraídas de tuna (*Opuntia albicarpa*) y sus fracciones, mediante las técnicas ABTS y DPPH.
3. Determinar la actividad antimicrobiana de pectinas extraídas de tuna (*Opuntia albicarpa*) a través de la concentración mínima inhibitoria y permeación de membrana contra microorganismos como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* y *Candida parapsilosis*.

## **5. Materiales y métodos**

### **5.1. Materiales**

Se utilizaron 2 pectinas extraídas de tuna blanca *Opuntia albicarpa* Scheinvar, 'Reyna', cultivada en San Martín de las Pirámides, Estado de México (19° 66' / 98° 72'). La extracción de pectinas se realizó en dos diferentes años, siguiendo el protocolo establecido por el Cuerpo Académico de Biotecnología Agroalimentaria (CABA) (Lira-Ortiz et al., 2014; Morales-Martínez et al., 2018a), las cuales se denominarán en este estudio como CABA 01 y CABA 02. Se usó también pectina cítrica comercial (PC) (Genupectin®, CP Kelco; EE. UU) como referencia.

### **5.2. Purificación de pectinas**

La purificación de pectina se realizó siguiendo el método descrito por Lira-Ortiz., et al., (2014). Se dispersaron 11 g de pectina cruda (obtenida de la extracción como polisacáridos insolubles en alcohol) en 500 mL de agua destilada a 45 °C, durante 24 h en agitación magnética. La dispersión se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó a 6953 g por 25 min a 4 °C. Se separó la parte soluble (sobrenadante) por decantación, el residuo insoluble se desechó. La pectina en solución se precipitó con 2 volúmenes de etanol frío y potable al 96%, acidificado con HCl (pH= 3.0). Esta mezcla se mantuvo en agitación magnética a temperatura de refrigeración (5-7 °C) durante 12 h, para remover sales procedentes de la extracción. La pectina precipitada y clarificada se recuperó por filtración y se lavó con etanol potable al 96%. Durante el proceso de lavado, se tomaron muestras de los lavados (etanol) para verificar presencia de azúcares simples en ellos, usando de forma cualitativa la prueba de fenol sulfúrico. Se consideró que la pectina está "libre de azúcares simples" cuando la coloración de los lavados se mantenía en naranja tenue. En la Fig. 5 se muestra una imagen de la prueba cualitativa de fenol-sulfúrico realizada a muestras de etanol procedentes de los lavados de las pectinas. Este proceso de lavado se realizó también a la pectina cítrica comercial.



**Figura 5.** Imagen representativa de la prueba cualitativa de fenol-sulfúrico (0.5 mL de etanol procedente de lavados de pectina + 0.5 mL de fenol al 5 % + 5 mL de ácido sulfúrico concentrado) realizada durante la purificación de pectinas. De izquierda a derecha se muestran los lavados 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) y el cambio de coloración hacia naranja tenue.

La pectina clarificada y lavada se secó en horno con convección a 45 °C hasta eliminar el etanol. Posteriormente, la pectina se dispersó en agua desionizada hasta obtener una concentración del 2%, y se colocó en membranas de celulosa para diálisis (MWCO = 10-12 kDa). La diálisis se realizó colocando 3 membranas (aproximadamente de 27 mm de diámetro, 15 cm largo) en una cubeta de plástico con 10 a 15 L de agua destilada, manteniendo agitación magnética a temperatura de refrigeración. Se realizaron 2 cambios de agua al día, durante 2 días. La pectina se recuperó en un vaso de precipitado, enjuagando las membranas con agua desionizada. Posteriormente se precipitó con etanol frío al 96%, usando 2 volúmenes de etanol por volumen de solución de pectina. La mezcla se dejó en reposo en refrigeración por 12 h y se recuperó el precipitado, el cual corresponde a la pectina clarificada, lavada y dializada (PCLD). Esta pectina se secó en horno con convección a 45 °C. Después se trituró en un mortero y se tamizó (US malla 60, 250  $\mu$ m). El polvo de PCLD se secó a 92 °C durante 24 h, y se almacenó en recipientes de plástico. La Figura 6 muestra el procedimiento de purificación realizado a las pectinas.



**Figura 6.** Imágenes representativas del proceso de purificación de pectinas.

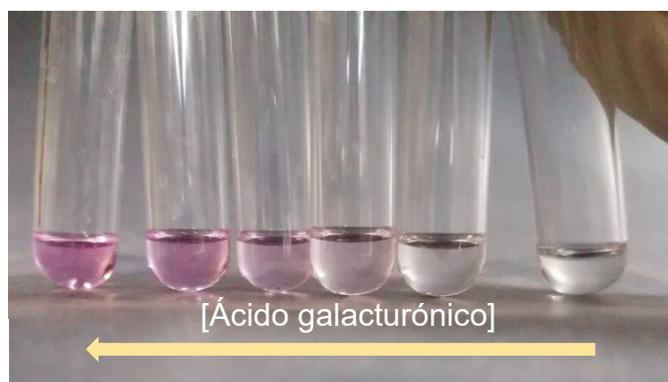
### **5.3. Caracterización química**

#### **5.3.1. Identificación de grupos funcionales por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)**

La identificación de grupos funcionales se realizó en un equipo FTIR (Cary 630, Agilent Technologies Inc. EE. UU.) con accesorio ATR. Las muestras se inspeccionaron entre números de onda de 4000 y 650  $\text{cm}^{-1}$  con 32 escaneos y una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . La recopilación de datos y el procesamiento de los espectros se realizaron con los programas Resolutions Pro® y MicroLab® (Agilent Technologies Inc. EE. UU.).

#### **5.3.2. Determinación de ácido galacturónico**

La determinación de ácido galacturónico en pectinas se realizó mediante la técnica descrita por Filisetti-Cozzi y Carpita (1991). Se prepararon soluciones acuosas de pectinas de 0.04 mg/mL. Se colocaron 400  $\mu\text{L}$  de las soluciones de pectina en tubos de vidrio y 20  $\mu\text{L}$  de ácido sulfámico-sulfamato de potasio 4 M, después se adicionaron 1.2 mL de tetraborato de sodio 0.075 M en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y se agitó la mezcla en vórtex durante 30 s. Cada tubo se enfrió en un baño de hielo por 1.5 min. Posteriormente, todos los tubos con las muestras y reactivos se calentaron en baño María en ebullición por 20 min. Al terminar, los tubos se colocaron en baño de hielo durante 30 s y se enfriaron a temperatura ambiente. Posterior al enfriamiento, con un tubo a la vez, se colocaron 40  $\mu\text{L}$  de metahidroxidifenil al 0.15% en 0.5% de NaOH, la mezcla se agitó vigorosamente durante 30 s, se colocó en una celda de vidrio óptico y se realizó la lectura de su absorbancia en un espectro Uv-Vis (Thermo Sci) a 525 nm, exactamente a los 4 min de la adición del reactivo metahidroxidifenil. Se preparó un blanco de reactivos, el cual se sometió al mismo tratamiento y en paralelo con los tubos muestra. Se realizó una curva de calibración con ácido galacturónico en concentraciones de 0 a 100 mg/L (Anexo A). Las determinaciones se realizaron por triplicado. La Figura 7 muestra el aspecto de las mezclas reactivas usadas en la curva estándar.



**Figura 7.** Muestras para curva de calibración de ácido galacturónico

### **5.3.3. Determinación del grado de metilesterificación por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)**

El grado de metilesterificación de las pectinas se determinó utilizando el equipo FTIR (Cary 630, Agilent Technologies Inc. EE. UU.) con accesorio de reflexión atenuada (ATR). El porcentaje de grado de esterificación por grupos metilo (DM) está definido como el porcentaje molar de los ácidos galacturónicos esterificados con grupos metilo. En un espectro de FTIR, el área de la banda  $\approx 1745-1730\text{ cm}^{-1}$  es proporcional al número de grupos carboxilos esterificados, mientras que la banda  $\approx 1600-1630\text{ cm}^{-1}$  es proporcional al número de grupos carboxilos libres, por lo tanto, el valor DM de las pectinas se determinó usando la ecuación (1), de acuerdo a lo reportado en la literatura (Alba et al., 2018; Chatjigakis et al., 1998).

$$DM(\%) = \frac{A_{1730}}{A_{1730} + A_{1600}} (100) \quad (1)$$

En donde  $A_{1730}$  y  $A_{1600}$  son las áreas de los picos en  $1739$  y  $1600\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Para la determinación del DM, se usaron tres muestras de cada

pectina y sus espectros FTIR se analizaron con los programas Resolutions Pro® y MicroLab® (Agilent Technologies Inc. EE. UU.), obteniendo las áreas de las bandas a 1730 y 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.3.4. Determinación de la masa molar de pectinas

La masa molar se determinó mediante cromatografía de permeación en gel/exclusión de tamaño (GPC/SEC) en un equipo de cromatografía de líquidos de alto desempeño (HPLC) con 2 columnas conectadas en serie PL aquagel-OH MIXED-H (Agilent Technologies® 8  $\mu\text{m}$ , 300 × 7.5 mm) y un detector de índice de refracción (RID).

Se prepararon soluciones de pectinas al 0.2% p/v (2 mg/mL) y se filtraron con un filtro Millipore® de 0.45  $\mu\text{m}$  para su posterior inyección en HPLC. La curva de calibración se realizó con estándares de Dextranas (Sigma Aldrich) con un intervalo de masas molares de 50 a 670 kDa, a una concentración de 2 mg/mL. Para todas las soluciones se utilizó agua grado HPLC como disolvente (Muhammad, Zahari, Gannasin, Adzahan, & Bakar, 2014). Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 6. La determinación de la masa molar promedio en peso ( $M_w$ ), masa molar promedio en número ( $M_n$ ) e índice de polidispersión ( $M_w/M_n$ ) se realizó a través del software del equipo, utilizando las constantes de Mark–Houwink–Sakurada para pectinas disueltas en agua,  $K=0.0213 \text{ cm}^3/\text{g}$  y  $\alpha=0.8129$ , reportadas por Masuelli (2011).

**Tabla 6.** Condiciones para determinar la masa molar de pectinas por GPC/SEC

Volumen de inyección	200 $\mu\text{L}$
Flujo	1 mL/ min
Temperatura de la columna	50 °C
Fase móvil	0.2 M $\text{NaNO}_3$ + 0.01 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4$
Detector	Índice de refracción

### 5.3.5. Determinación de ácido ferúlico

El contenido de ácido ferúlico en las pectinas se determinó siguiendo la metodología descrita por Karnik, Jung, Hawking, & Wicker (2016), usando un espectro Uv-Vis (Thermo Sci). Se prepararon 5 mL de soluciones de pectinas al 0.3%. La absorbancia de las soluciones se midió a 310 nm. Se realizó una curva estándar de ácido ferúlico (3 a 15 µg/mL) utilizando ácido transferúlico estándar (Aldrich Chemicals, 128708 (Anexo B)).

### 5.3.6. Determinación de proteína

El contenido de proteína se realizó mediante el método Kjeldahl (AOAC, 2000). En un equipo Büchi K350 se digirieron 0.2 g de muestra con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 3 g de mezcla digestora (90.9 % K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 9.1% CuSO<sub>4</sub>) durante 2.5 h. Después se enfrió la muestra digerida y se adicionaron 20 mL de agua destilada. Posteriormente se adicionó NaOH al 40% en exceso y se destiló la mezcla durante 5 minutos. El destilado se recuperó en 30 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 4 %. Posteriormente se tituló con HCl 0.1 N utilizando rojo de metilo como indicador. El porcentaje de nitrógeno se determinó de acuerdo con la ecuación 2 y para calcular el porcentaje de proteína se utilizó como factor 6.25.

$$N = \frac{(V - V_0)(N_{HCl})(meq)}{Mm} \quad (2)$$

Donde:

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

V = volumen de HCl gastado en la titulación de la muestra (mL)

V<sub>0</sub> = volumen de HCl gastado la titulación del blanco (mL)

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

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

Mm= masa de la muestra (g)

### 5.3.7. Determinación de monosacáridos por HPLC

La determinación de monosacáridos en pectinas se realizó a través de cromatografía de líquidos de alto desempeño (HPLC) en un equipo Agilent Technologies 1260 Infinity con un detector de índice de refracción (RID) y una columna Aminex HPX-87P (Bio-Rad), las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Condiciones experimentales para la determinación de monosacáridos por HPLC

Volumen de inyección	30 $\mu$ L
Flujo	0.6 mL/min
Temperatura de la columna	85 °C
Fase móvil	Agua pH 5.5
Temperatura RID	85 °C

Se hidrolizaron 0.6 g de muestra con 2 mL de ácido trifluoroacético (TFA) 2 M durante 5 h a 121 °C (Figura 8). Las muestras hidrolizadas se concentraron en un equipo Savant SpeedVac (Thermo Scientific) durante 3 h a 45 °C y 733.27 Pa. Posteriormente se resuspendieron en 200  $\mu$ L de agua destilada, se agitaron en vortex y se colocaron nuevamente en el concentrador durante 30 min (45 °C, 733.27 Pa). Después se agregaron 400  $\mu$ L de agua y se colocaron en SpeedVac durante 1 h (45 °C, 733.27 Pa); finalmente se adicionaron 2 mL de agua destilada y se concentró la muestra nuevamente bajo las condiciones previas en SpeedVac (Figura 8b). Las muestras hidrolizadas y concentradas se re-suspendieron en 10 mL de agua desionizada. Se tomó una alícuota de 2 mL, se pasó a través de un filtro de 0.45  $\mu$ m y se colocó en un vial ámbar para su inyección en HPLC. Se realizaron curvas de calibración con estándares de monosacáridos: glucosa, ramnosa, ácido glucurónico, arabinosa, galactosa, manosa, xilosa, fructosa (Anexo C).



**Figura 8.** Muestra hidrolizada (a) y concentrada (b) de pectina previo al análisis de monosacáridos por HPLC.

### 5.3.8. Determinación del $pK_a$

La determinación del  $pK_a$  se realizó utilizando la metodología descrita por Rivera-Hernández et al. (2023), mediante valoración potenciométrica utilizando un potenciómetro digital (Hanna, Instruments). Se prepararon 10 mL de soluciones de pectina al 0.1 % m/v, las cuales se dejaron en agitación magnética durante toda la noche. A cada muestra se le adicionaron 20  $\mu$ L de NaOH al 0.1 N y se fue registrando el pH hasta alcanzar un pH de 10. Se graficó el pH contra el volumen adicionado de NaOH, así como las dependencias  $(\Delta pH/\Delta V) = f(V)$  y  $\Delta(\Delta pH/\Delta V) = f(V)$  con los datos obtenidos en la curva de valoración, como aproximaciones a las primera y segunda derivadas correspondientes, lo cual permitió obtener una determinación más precisa del valor de  $pK_a$ . La mitad del volumen para alcanzar el punto de equivalencia (cantidad de NaOH para neutralizar el ácido galacturónico presente en la pectina) se define como el valor de  $pK_a$ . Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### 5.4. Propiedades reológicas de pectinas en solución

La viscosidad de soluciones de pectina se determinó a través de pruebas de cizalla estacionaria, en un reómetro ARES G2 TA-Instruments utilizando una geometría de cilindros concéntricos de doble pared. Se midió la viscosidad de pectinas en solución acuosa al 1%, en un rango de velocidad de cizallamiento de 1 a 600 s<sup>-1</sup> a 25°C. Los datos de viscosidad ( $\eta$ ) y velocidad de deformación o cizalla ( $\dot{\gamma}$ ), se ajustaron al modelo reológico de Cross de tres parámetros (ecuación 3):

$$\eta = \frac{\eta_0}{1 + (\lambda\dot{\gamma})^m} \quad (3)$$

Donde:

$\eta$ : viscosidad no newtoniana (Pa s)

$\eta_0$ : viscosidad a cizalla tendiente a cero (Pa s)

$\lambda$ : tiempo de relajación (s)

$\dot{\gamma}$ : velocidad de deformación o cizalla (s<sup>-1</sup>)

$m$ : exponente del Modelo de Cross (adimensional)

## 5.5. Determinación de actividad antioxidante de pectinas

### 5.5.1. Determinación de actividad antioxidante mediante DPPH

La actividad antioxidante de DPPH se llevó a cabo de acuerdo con Rha et al. (2011) con algunas modificaciones. Se prepararon soluciones al 0.4% de pectinas. Se mezcló 1 mL de la muestra en solución con 1 mL de DPPH en metanol (0.1 mM). Posteriormente se incubó durante 30 minutos y la absorbancia se midió a 517 nm a temperatura ambiente en oscuridad. Se realizó una curva de calibración con ácido ascórbico (Anexo D). La actividad antioxidante se reportó en porcentaje utilizando la ecuación 4.

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{A_m - A_b}{A_R}\right) \times 100 \quad (4)$$

$A_m$ = Absorbancia de la muestra con el radical

$A_b$ =Absorbancia de la muestra con metanol

$A_R$ =Absorbancia del radical con metanol

### 5.5.2. 4.5.2 Determinación de actividad antioxidante mediante ABTS

La actividad antioxidante de pectinas contra el radical ABTS se llevó a cabo por el método descrito por Braca et al. (2001). Un mililitro de solución ABTS (persulfato de potasio 2.45 mM + ABTS 7 mM) se mezcló con 1 mL de la muestra en solución (0.4% pectina). Se incubó durante 6 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, y se leyó su absorbancia a 734 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido ascórbico (Anexo E). La actividad antioxidante se reportó utilizando la ecuación 5.

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{A_m - A_b}{A_R}\right) \times 100 \quad (5)$$

$A_m$ = Absorbancia de la muestra con el radical

$A_b$ =Absorbancia de la muestra con etanol

$A_R$ =Absorbancia del radical con etanol

## **5.6. Determinación de actividad antimicrobiana de pectinas**

### **5.6.1. Microorganismos indicadores**

Los microorganismos indicadores fueron: *Escherichia coli* (CCAYAC ATCC11229), *Salmonella sp.* (CCAYAC ATCC 14028), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella flexneri* (ATCC 12022), *Listeria monocytogenes* (CCAYAC ATCC 19115) y *Staphylococcus aureus* (CCAYAC ATCC 6538), *Candida parapsilosis*; todos donados por el Laboratorio estatal de Salud Pública de Hidalgo.

### **5.6.2. Concentración mínima inhibitoria**

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó siguiendo la metodología descrita por Wiegand, Hilpert, & Hancock (2008). Se realizó la activación de microorganismos, inoculando 5 mL de medio BHI con 50 µL de suspensión bacteriana de un vial de conservación e incubando a 37 °C por 24 h. Posteriormente se sembraron 50 µL de suspensión bacteriana activa en 5 mL de BHI y se incubó a 37 °C durante 6 h. Después los microorganismos se diluyeron hasta concentraciones de 10<sup>6</sup> UFC/mL, mediante diluciones base 10 (iniciando con concentraciones de 10<sup>9</sup> UFC/mL para *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Shigella flexneri* y 10<sup>8</sup> UFC/mL, para *L. monocytogenes* y *S. aureus*) usando solución salina (0.85% NaCl) como diluyente.

En placas ELISA de 96 pozos, se colocaron 50 µL de medio BHI, suspensión bacteriana (de acuerdo con lo indicado en la Tabla 8), solución de pectina (Tabla 9), y se aforó a 220 µL con agua destilada, para evaluar las pectinas a las concentraciones (mg/mL): 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 y 13. Se leyó la absorbancia de los pozos en los tiempos 0, 18, 20, 22 y 24 h a una longitud de onda de 545-630 nm. El control negativo consistió en 50 µL de medio BHI y 170 µL de agua. El control positivo consistió en 50 µL de medio BHI, el microorganismo indicador (Tabla 8) y agua. La CMI se determinó como la mínima concentración a la cual no se observó crecimiento de las bacterias.

**Tabla 8.** Concentración inicial y volumen de suspensión bacteriana adicionada a cada pozo

Microorganismo indicador	UFC/mL	Suspensión bacteriana en pozo ( $\mu\text{L}$ )
<i>Listeria monocytogenes</i>	$10^8$	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^8$	18
<i>Escherichia coli</i>	$10^9$	23
<i>Shigella flexneri</i>	$10^9$	25
<i>Salmonella</i> sp.	$10^9$	28
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$10^9$	28
<i>Candida parapsilosis</i>	$10^9$	3

**Tabla 9.** Volumen de solución de pectina al 2% adicionada a cada pozo en placa ELISA

Concentración final de pectina en el pozo (mg/mL)	Pectina al 2% p/v (20 mg/mL) adicionado al pozo ( $\mu\text{L}$ )
1	11
2	22
3	33
4	44
6	66
8	88
10	110
12	132
13	143

### 5.6.3. Captación de cristal violeta para la evaluación de la permeabilidad de la membrana bacteriana

La tinción con cristal violeta es un ensayo rápido para evaluar la viabilidad celular bajo diversas condiciones, donde las células con daño en la membrana permitirán la entrada del colorante a la célula, interactuando con el ADN y las proteínas, indicando que la membrana ha sufrido daños (Geserick et al., 2009). La evaluación de la permeabilidad de la membrana bacteriana se realizó utilizando el método descrito por Hernández-Valdepeña et al. (2021). Las bacterias indicadoras ( $10^5$  UFC) se inocularon en BHI en ausencia (control biótico) y presencia de pectinas a la concentración mínima inhibitoria encontrada para cada una de ellas. La mezcla se incubó a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 18 h. Posteriormente, 1 mL del cultivo se centrifugó a 1523 g durante 5 minutos. Las células se re-suspendieron en solución salina (0.85%) con cristal violeta (ajustada previamente a una absorbancia de 0.5) y se incubaron durante 10 minutos a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se centrifugaron a 1523 g durante 10 minutos y se leyó la absorbancia a 570 nm. El porcentaje de captación de cristal violeta en la membrana bacteriana fue calculado usando la ecuación 6.

$$CCV (\%) = \left(1 - \frac{A_x}{A_0}\right) \times 100 \quad (6)$$

Donde:

CCV = captación de cristal violeta en membrana bacteriana

$A_x$  = absorbancia de la muestra

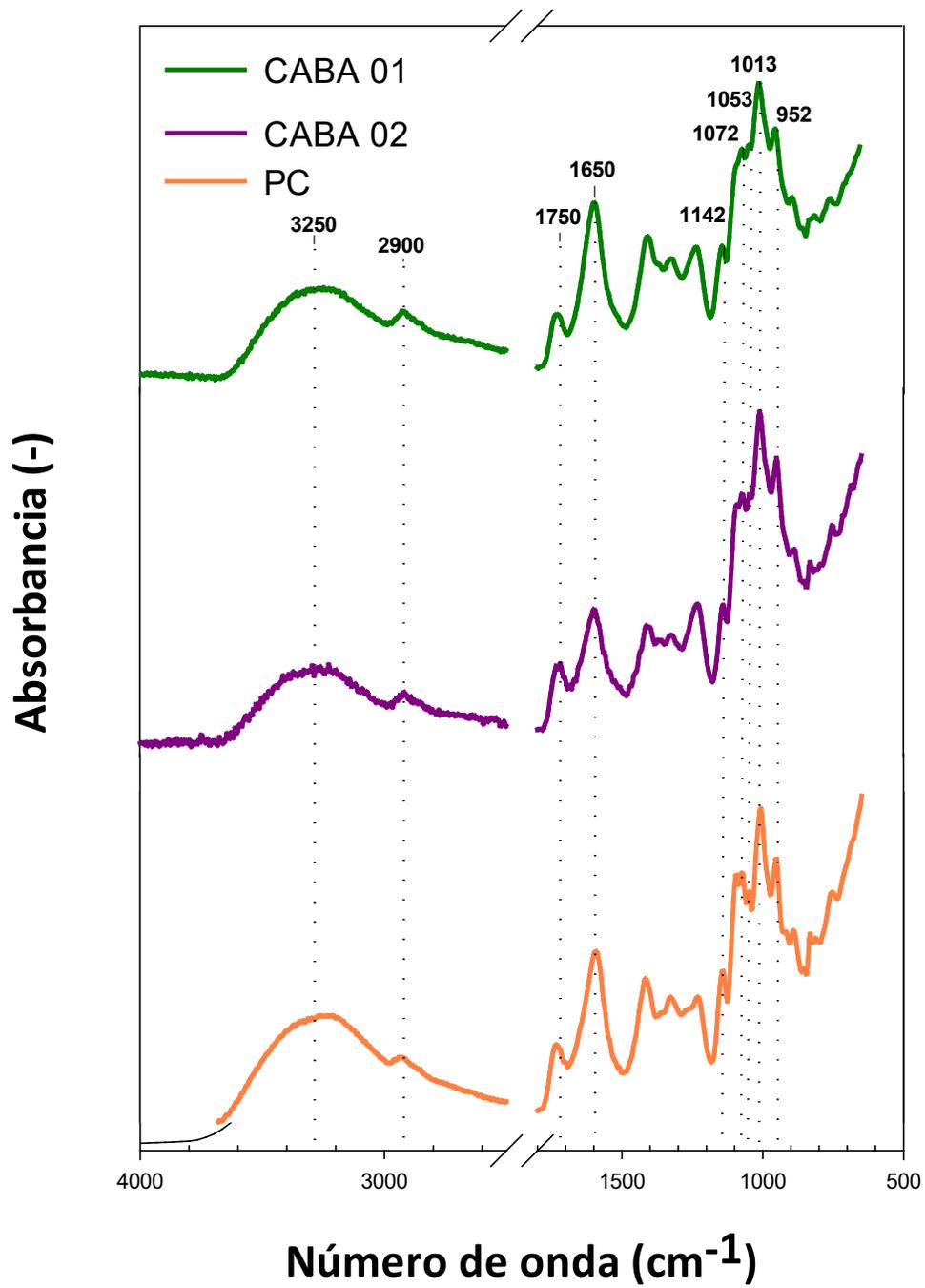
$A_0$  = absorbancia del blanco

## 6. Resultados y discusiones

### 6.1. Identificación de grupos funcionales

En la Figura 9 se observa el espectro infrarrojo de las pectinas de tuna *Opuntia albicarpa* (CABA 01 y CABA 02) y de pectina cítrica comercial (PC). Todas las pectinas mostraron una absorción alrededor de los 3200 - 3600  $\text{cm}^{-1}$ , la cual se atribuye al estiramiento de los enlaces O-H de los grupos hidroxilo inter e intramoleculares presentes en la pectina. El pico que se observa alrededor de los 3000 a 2800  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la vibración de estiramiento de enlaces C-H de los grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  de los ésteres presentes en el ácido galacturónico. La absorción en 1750  $\text{cm}^{-1}$  se debe a la vibración de estiramiento del doble enlace C=O de grupos carboxílicos esterificados. La absorción a 1650  $\text{cm}^{-1}$  se debe al estiramiento asimétrico de los aniones carboxilato presente en los ácidos urónicos de la pectina.

En la región entre 1200 y 800  $\text{cm}^{-1}$ , conocida como “huella dactilar “, se encuentran picos correspondientes a los enlaces C-OH, C-O-C, C-C de los azúcares presentes en la pectina. El pico alrededor de 1142  $\text{cm}^{-1}$  es característico de las vibraciones de los enlaces glicosídicos C-O-C. Las bandas a 1053 y 1072  $\text{cm}^{-1}$  se asocian a azúcares como arabinosa y galactosa. Comparando los espectros de las pectinas de tuna con el espectro de pectina cítrica se concluye que los polímeros en estudio son pectinas debido a que muestran los mismos picos en la región de huella dactilar y las bandas de los grupos funcionales característicos observados en polisacáridos pécticos (Chen et al., 2015; Wandee et al., 2019)



**Figura 9.** Espectro FT-IR de pectinas de tuna (CABA 01 y CABA 02) y pectina cítrica (PC).

## 6.2. Caracterización química

En la Tabla 10 se observa la caracterización química de las pectinas de tuna y cítrica. CABA 01 presentó un porcentaje de  $72.12 \pm 6.55$  de ácido galacturónico mientras que CABA 02 de  $68.77 \pm 2.93$ , los cuales no son diferentes significativamente ( $p > 0.05$ ) mientras que la pectina cítrica tuvo un contenido de ácido galacturónico significativamente mayor ( $p < 0.05$ ),  $95.97 \pm 2.25\%$ .

Estos porcentajes coinciden con lo reportado por Lira-Ortiz et al. (2014) y Morales-Martínez et al. (2018), quienes indican un porcentaje de 65.4% y 65.23%, respectivamente, de ácido galacturónico en pectinas de tunas del mismo cultivar. Los valores obtenidos son mayores a 65%, confirmando que los polisacáridos en estudio pueden ser considerados como pectinas de acuerdo con lo establecido por la FAO (FAO, 1995).

El porcentaje de ácido galacturónico está relacionado con la presencia y predominio de homogalacturonano en la estructura de las pectinas, siendo así que un porcentaje grande de ácido galacturónico indica que la mayor parte de la estructura de la pectina está conformada por homogalacturonano (Hosseini, Khodaiyan, Kazemi, & Najari, 2019). En la Tabla 10 se muestran los porcentajes molares de homogalacturonano en cada pectina, los cuales fueron mayores al 90%: 91.71, 90.04 y 95.04, para las pectinas CABA 01, CABA 02 y PC, respectivamente. El dominio denominado ramnogalacturonano I (RG-I), representa menos del 10% molar en las pectinas analizadas. De acuerdo a lo reportado en la Tabla 10, la pectina cítrica es la macromolécula menos ramificada, mientras que CABA 02 es la que presenta mayor contenido de cadenas laterales (RG-I = 9.96%).

En cuanto al grado de metil-esterificación, las pectinas de tuna presentaron valores de 39.97 y 44.46%, los cuales son mayores significativamente ( $p < 0.05$ ) respecto al grado de esterificación de la pectina cítrica (33.68%). Los valores obtenidos son similares al 43.25% obtenido por Morales-Martínez et al. (2018) en pectina de tuna, sin embargo, son mayores al 30.7% reportado por Lira-Ortiz et al. (2014), lo cual puede ser debido a que el grado de esterificación varía de acuerdo a los procesos de extracción y

**Tabla 10.**Caracterización química de pectinas de tuna y cítrica

	<b>CABA 01</b>	<b>CABA 02</b>	<b>Cítrica</b>
Proteína (%)	4.76 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.23 ± 0.495 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.12 <sup>b</sup>
Ácido galacturónico (%)	72.12 ± 6.55 <sup>a</sup>	68.77 ± 2.93 <sup>a</sup>	95.97 ± 2.25 <sup>b</sup>
Grado de metil-esterificación (DM, %)	39.97 ± 2.26 <sup>a</sup>	44.46 ± 3.9 <sup>a</sup>	33.68 ± 2.05 <sup>b</sup>
Ácido ferúlico (%)	0.258 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.311 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.393 ± 0.003 <sup>c</sup>
<b>Monosacáridos (%)</b>			
Glucosa	0.22 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.01 <sup>a</sup>
Xilosa	NC	NC	NC
Galactosa	0.28 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.07 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.88 ± 0.04 <sup>a</sup>
Arabinosa	2.63 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.07 ± 0.33 <sup>a</sup>	NC
Ramnosa	1.14 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.68 ± 0.03 <sup>a</sup>
Manosa	NC	NC	NC
HG (% mol) =AGal(%mol) – Ram(%mol)	91.71	90.04	95.04
RG-I (% mol) =2 Ram(%mol) + Ara (%mol) + Gal(%mol)	8.29	9.96	4.96
HG/RG-I	11.06	9.04	19.15
pK <sub>a</sub>	5.96 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.97 ± 0.19 <sup>a</sup>	4.28 ± 0.08 <sup>b</sup>

Los valores son los promedios de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra no fueron significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ; prueba de Tukey).

AGal= ácido galacturónico; Gal = galactosa; Ram = ramnosa; Ara = arabinosa; HG = homogalacturonano; RG-I = ramnogalacturono I.

purificación de la pectina (Picot-Allain et al., 2022). Con los valores obtenidos del grado de metil-esterificación de las pectinas se pueden clasificar como “pectinas de bajo metoxilo” y esto le confiere la capacidad de formar geles flexibles y elásticos en presencia de iones calcio, lo cual ha sido previamente estudiado por Lira-Ortiz et al. (2014) en pectina de tuna y Rivera et al., (2022) en pectina cítrica.

Dentro de la composición de las pectinas se encontró ácido ferúlico, en mayor porcentaje en pectina cítrica seguido por CABA 02 y CABA 01 (0.39, 0.31 y 0.24%, respectivamente). Se han reportado pectinas con ácido ferúlico en su composición, este compuesto fenólico se ubica en los extremos de arabinosa o galactosa que conforman las cadenas laterales de pectinas (Voragen, Coenen, Verhoef, & Schols, 2009). Los valores de ácido ferúlico encontrados en pectinas de tuna, son similares a lo reportado por Soto-Romero (2019) para pectina de tuna del mismo cultivar (0.36%) y mayores a lo reportado por Wikiera et al. (2021) (0.24% de ácido ferúlico) para pectina de manzana; sin embargo, son menores a los reportado por Lara-Espinoza et al. (2021), quienes encontraron porcentajes de 0.55, 0.35 y 0.47% de ácido ferúlico en pectina de diferentes variedades de remolacha. El contenido de ácido ferúlico depende de varios factores como las condiciones de cultivo y extracción, ya que en esta última se pueden liberar azúcares neutros como galactosa y arabinosa de RG-I en los que se encuentra unido el ácido ferúlico (Lara-Espinoza et al., 2021). La presencia de ácido ferúlico determina algunas de las propiedades bioactivas de las pectinas, ya que se ha reportado que esta molécula tiene propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitrombóticas, anticancerígenas, reduce el colesterol y protege contra enfermedades coronarias (Li et al., 2021).

En el análisis de contenido de monosacáridos en las pectinas, en CABA 01 y CABA 02 se encontraron azúcares neutros como la arabinosa, ramnosa, galactosa y glucosa en diferentes porcentajes, 2.63 y 4.07%, 1.14 y 0.91%, 0.28 y 0.07%, 0.22 y 0.13%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Soto-Romero (2019), quien además cuantificó manosa en pectina de tuna (*Opuntia albicarpa*), sin embargo, este monosacárido no es característico de pectinas si no que se relaciona a la contaminación con hemicelulosa (Kalegowda, Singh Chauhan, & Mysore

NanjarajUrs, 2017). En cuanto a la pectina cítrica se encontraron tres azúcares neutros: ramnosa (1.68%), galactosa (0.88%) y glucosa (0.22%), lo cual concuerda con lo reportado por Rivera-Hernández et al. (2023), sin embargo, ellos también encontraron arabinosa dentro de la composición de pectina cítrica. Zheng et al. (2020) también reportaron arabinosa, galactosa, xilosa y ramnosa en pectina cítrica en diferentes porcentajes.

La composición de monosacáridos depende de la fuente, de las condiciones de extracción y del proceso de purificación, ya que durante estos procesos ocurren diferentes reacciones provocando la liberación de cadenas laterales compuestas principalmente de monosacáridos (Pińkowska, Wolak, Krzywonos, & Złocińska, 2021). Por otra parte, el proceso de preparación de muestras para el análisis de monosacáridos por HPLC genera diferencias en los resultados debido a la complejidad estructural de estas macromoléculas, los procesos de hidrólisis son muy agresivos y pueden generar diferencias en las unidades monoméricas liberadas para su identificación y cuantificación. En la Figura 10 se muestran los cromatogramas obtenidos para las pectinas y su comparación con una mezcla (Mix) de monosacáridos estándares.

Dentro de la composición de las pectinas se encontró proteína: 4.76%, 5.23% y 4.00% para CABA 01, CABA 02 y pectina cítrica, respectivamente. El contenido de proteína no fue diferente significativamente entre las pectinas de tuna, sin embargo, la pectina cítrica presentó un porcentaje menor de proteína como se observa en la Tabla 10. Estos valores son similares a lo reportado en pectina de manzana (4.43%) y en pectina de girasol (4.33%) (Muhidinov et al., 2021), sin embargo, mayores al 1.91% reportado por Saeidy et al. (2023), en pectina de betabel y menores al 10.82% reportado por Morales-Martínez et al. (2018) en pectina de tuna. El contenido de proteína depende de las técnicas utilizadas para la extracción y purificación de las pectinas (Muhidinov et al., 2021).

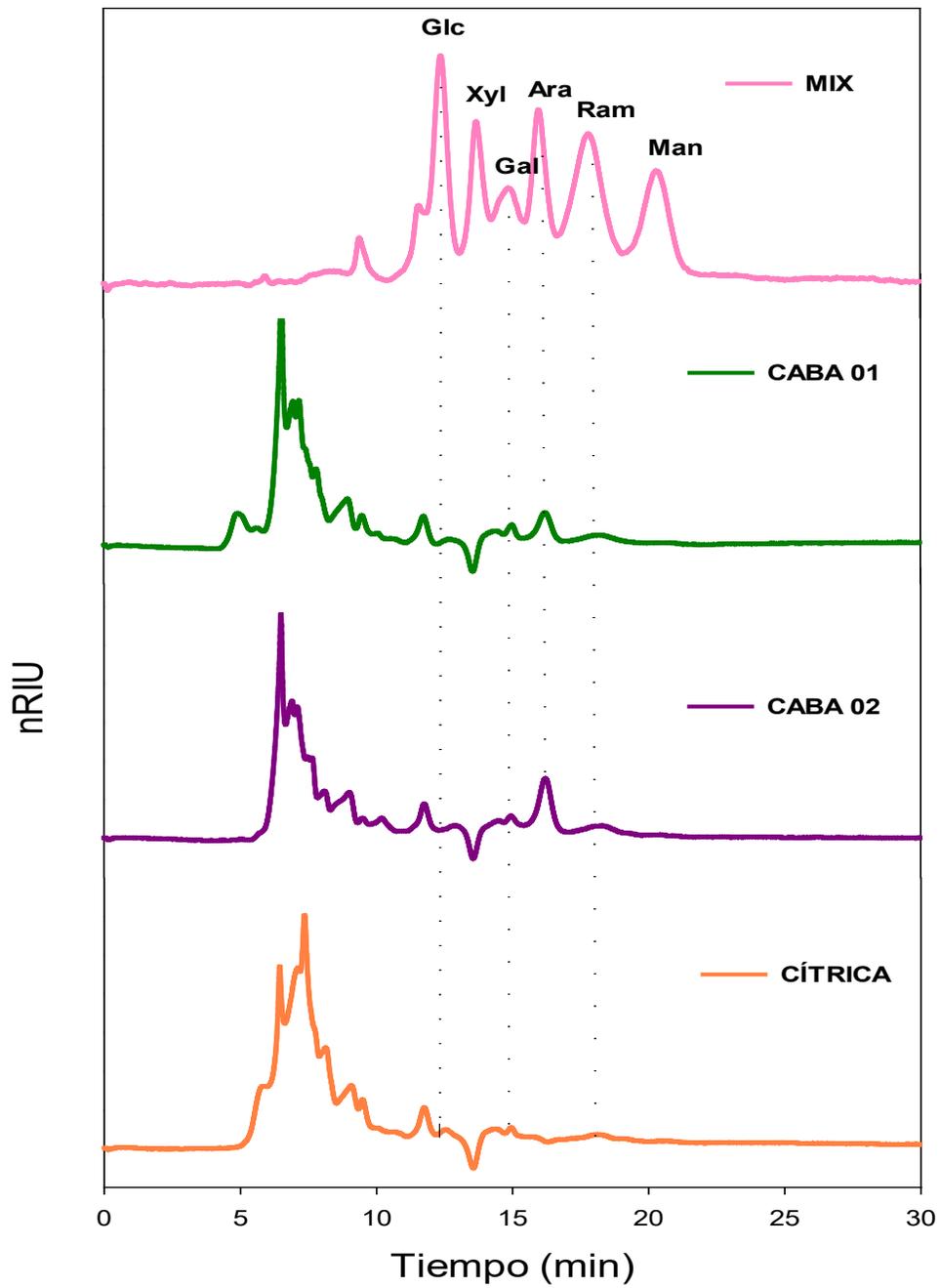


Figura 10. Cromatograma de pectinas hidrolizadas con TFA 2 M

### 6.2.1. Determinación de la masa molar

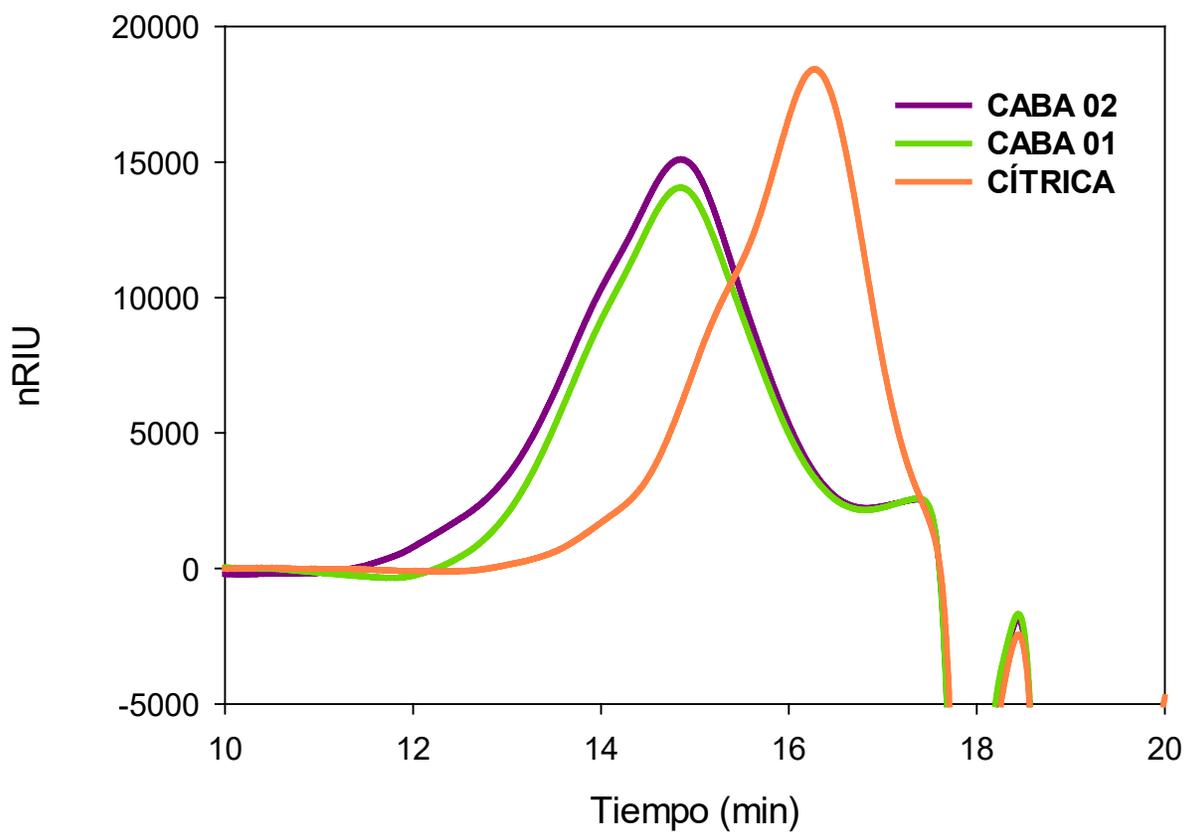
En la Figura 11 se observa el cromatograma de pectinas para la determinación de masa molar y en la Tabla 11 se observan las características macromoleculares de pectinas como la masa molar promedio en peso ( $M_w$ ), la masa molar promedio en número ( $M_n$ ) y el índice de polidispersión ( $IP = M_w/M_n$ ). Las pectinas de tuna presentaron mayores masas molares, tanto  $M_w$  como  $M_n$ , que la pectina cítrica, así como mayor índice de polidispersidad. Las pectinas de tuna son macromoléculas casi 4 veces más grandes en peso que las pectinas cítricas. Su complejidad estructural genera una distribución más amplia de masas molares ( $IP > 3$ ) que la pectina cítrica, la cual es una macromolécula más pequeña y con menores zonas ramificadas. La Figura 11 muestra el perfil de elución GPC/SEC de las pectinas de este estudio.

Las características macromoleculares de las pectinas de tuna (CABA 01 y CABA 02) son similares a lo reportado por Morales-Martínez et al. (2018) ( $M_w = 204.08 \times 10^3$  g/mol;  $IP = 3.19$ ) y Soto-Romero (2019) ( $M_w = 240.10 \times 10^3$  g/mol;  $IP = 4.42$ ) para pectina de tuna de la misma variedad. En diversos estudios se ha demostrado que el comportamiento de las pectinas como agente espesante, gelificante y estabilizador depende de la masa molar promedio y la distribución de masas molares (Dranca, Vargas, & Oroian, 2020).

**Tabla 11.** Características macromoleculares de pectinas.

	$M_n$ ( $10^3$ g/mol)	$M_w$ ( $10^3$ g/mol)	IP ( $M_w/M_n$ )
CABA 01	$46.83 \pm 1.12^b$	$193.08 \pm 2.99^b$	$4.52 \pm 0.70^a$
CABA 02	$74.48 \pm 0.64^a$	$241.94 \pm 18.99^a$	$3.25 \pm 0.23^b$
Cítrica	$16.86 \pm 0.24^c$	$50.90 \pm 1.23^c$	$2.91 \pm 0.18^c$

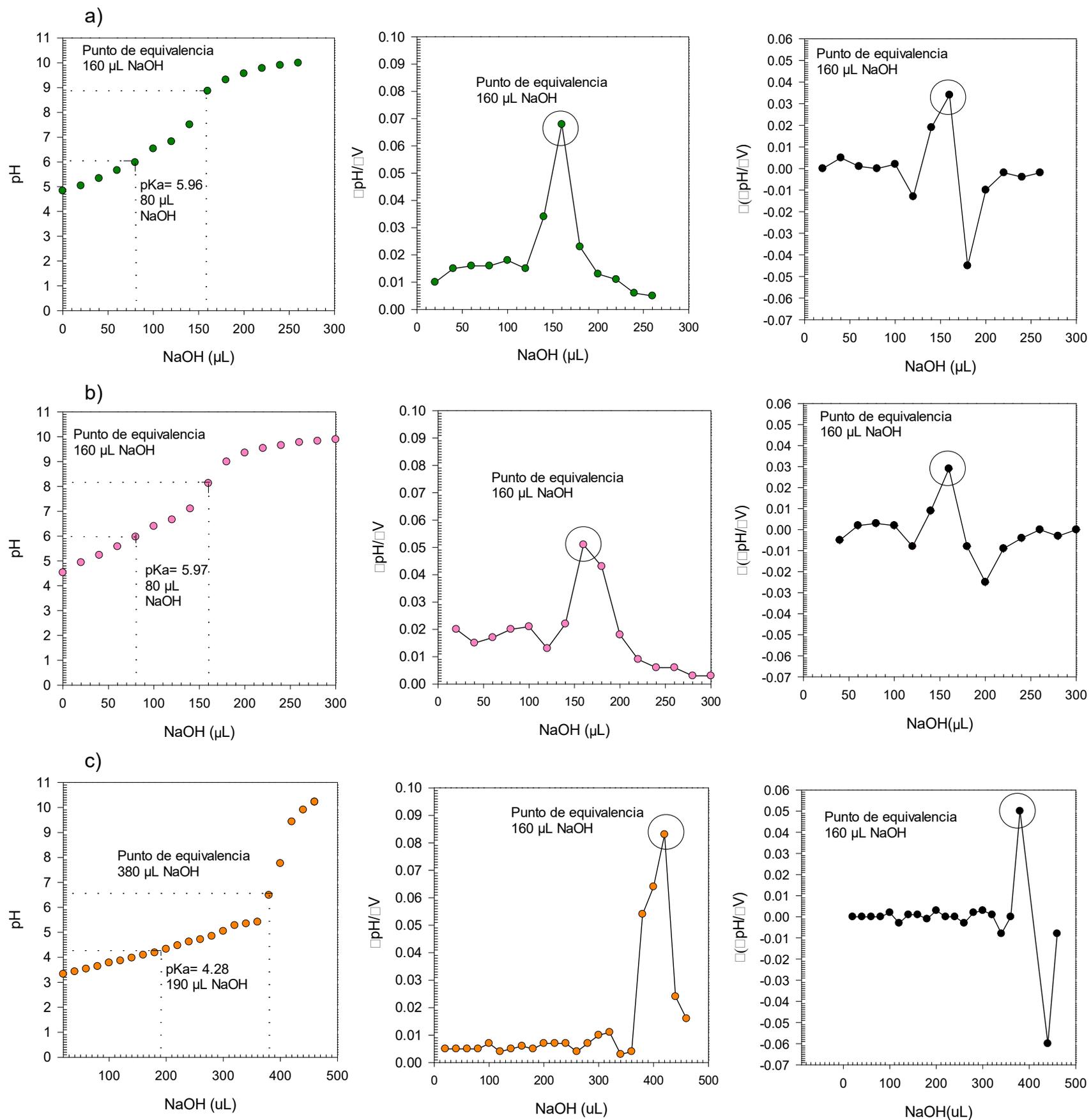
Los valores son los promedios de 3 repeticiones  $\pm$  desviación estándar. Los valores con la misma letra no fueron significativamente diferentes (prueba de Tukey;  $p > 0.05$ ).  $M_n$ : masa molecular promedio en número.  $M_w$ : masa molecular promedio en peso. IP: índice de polidispersión.



**Figura 11.** Cromatograma de pectinas para la determinación de masa molar

### 6.2.2. Determinación del pK<sub>a</sub>

En la Figura 12 se observan las curvas de titulación potenciométrica de pectinas de tuna y cítrica a una concentración de 1%. Además, se muestran las dependencias  $(\Delta\text{pH}/\Delta V)=f(V)$  y  $\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta V)=f(V)$  con los datos obtenidos en la curva de valoración, como aproximaciones a las primera y segunda derivadas correspondientes. El punto de equivalencia fue 160  $\mu\text{L}$  para pectinas de tuna y 380  $\mu\text{L}$  para pectina cítrica. Con esos valores, el pK<sub>a</sub> de pectinas de tuna es 5.96 y 5.97 y para pectina cítrica de 4.28, este último es cercano al reportado por Rivera-Hernández et al. (2023) para la misma pectina cítrica (i.e. 4.40). Para pectinas se han reportado valores de pK<sub>a</sub> en el rango de 3.5 a 4.5 el valor depende del contenido de ácido galacturónico, por lo que a mayor concentración de este ácido menor valor del pK<sub>a</sub>. El pK<sub>a</sub> de pectinas de tuna no ha sido reportado, sin embargo, es más alto que el de pectina cítrica, lo cual se atribuye a diferencias en su contenido de ácido galacturónico, mayores valores de DM (menor número de ácidos galacturónicos no esterificados), diferente contenido y posiblemente composición de aminoácidos en su fracción proteínica. Algunos estudios de la composición de aminoácidos de pectinas de frutas han reportado la presencia de treonina y serina los cuales son aminoácidos que poseen grupos R con alto valor de pK<sub>a</sub> (Lenchyk, Upyr, Mohammed, & Komisarenko, 2020), sin embargo, es necesario un análisis de aminoácidos de pectina de tuna.

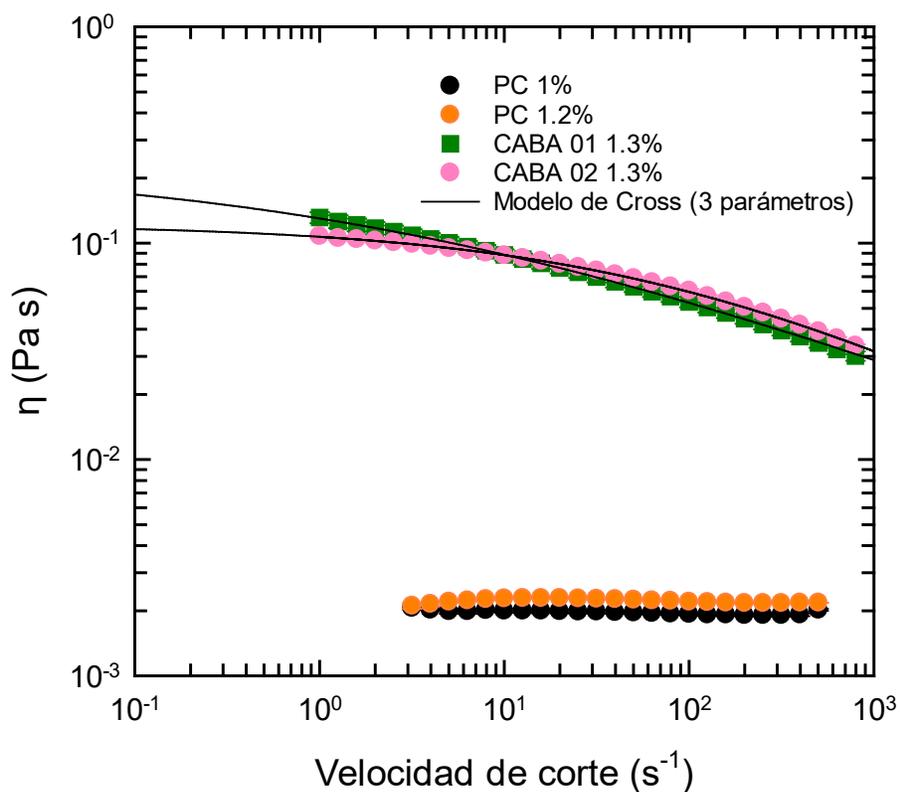


**Figura 12.** Curva de titulación potenciométrica, primera y segunda derivada de pectinas. a) CABA 01 y b) CABA 02) y c) cítrica

### 6.2.3. Viscosidad

En la Figura 13 se observan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de corte ( $s^{-1}$ ) de las pectinas de tuna y pectina cítrica. Para estas determinaciones se usaron las concentraciones de pectinas identificadas como mínimas inhibitorias para la mayoría de los microorganismos indicadores evaluados en este trabajo (sección 5.5). La viscosidad ( $\eta$ ) de las soluciones de pectinas de tuna disminuye conforme la velocidad de corte se incrementa, por lo tanto, las pectinas de tuna presentaron comportamiento no newtoniano del tipo pseudoplástico o reofluidificante. Este comportamiento es similar a lo reportado por Morales-Martínez et al. (2018) en pectina extraída de *Opuntia albicarpa* y *O. matudae*, y en pectina extraída de *Opuntia robusta* por Mota et al. (2020). En el caso de la pectina cítrica, se observó un comportamiento newtoniano en las dos concentraciones evaluadas (1 y 1.2%). La viscosidad de las soluciones de pectina cítrica fue dos órdenes de magnitud menor a la viscosidad de las pectinas de tuna, los valores de viscosidad fueron 1.97 y 2.22 mPa s para pectina cítrica al 1.0 y 1.2%, respectivamente. El comportamiento al flujo de las pectinas de tuna se describe a través del modelo de Cross, los parámetros del mejor ajuste se muestran en la Tabla 12. CABA 01 presentó un valor más grande de  $\eta_0$ , las soluciones de esta pectina presentan mayor viscosidad bajo cizallamiento tendiente a cero, como se observa en la Figura 12 en la línea de ajuste del modelo. CABA 02 presenta una meseta newtoniana más pronunciada que CABA 01, el valor de  $\lambda$  es una constante de tiempo relacionada con la relajación de las cadenas poliméricas en solución, lo cual depende de las interacciones intermoleculares del tipo van der Waals que se generan debido a ramificaciones en la estructura y el tamaño de las cadenas. CABA 02 presentó mayor masa molar y mayor proporción de cadenas laterales (valores mayores de RG-I), por lo tanto, el número de puentes de hidrógeno o interacciones tipo van der Waals, se incrementa, reduciendo el tiempo de relajación de cadenas (valores menores de  $\lambda$ ). En la región de flujo pseudoplástico, el valor de  $m$  para este tipo de polímeros tiende a  $(1-n)$ , en donde  $n$  es el índice de flujo del modelo de La Ley de la

Potencia, ampliamente conocido. Por lo tanto, las soluciones de CABA 01 son más pseudoplásticas que las de CABA 02.



**Figura 13.** Curva de viscosidad de pectinas de tuna y cítrica.

**Tabla 12.** Parámetros del modelo reológico de Cross para pectinas de tuna

	$\eta_0$ (Pa s)	$\lambda$ (s)	m (-)	R <sup>2</sup>	Error estándar
CABA 01	0.229	0.418	0.679	0.999	0.0004
CABA 02	0.122	0.011	0.566	0.999	0.0003

$\eta_0$ : viscosidad a valores de cizalla tendientes a cero.  $\lambda$ : Constante de tiempo del modelo de Cross, relacionada con el tiempo de relajación del polímero en solución. m: exponente del modelo de Cross.

### 6.3. Actividad antioxidante

En la Tabla 13 se muestran los resultados de la actividad antioxidante de las pectinas. Las pectinas CABA 01 y CABA 02, a una concentración del 0.4% p/v (4 mg/mL), presentaron menor porcentaje de captación de radicales DPPH que la pectina cítrica a la misma concentración; los valores fueron  $25.79 \pm 2.42$ ,  $22.85 \pm 1.68$  y  $36.0 \pm 1.0\%$ , para CABA 01, CABA 02 y pectina cítrica, respectivamente sin embargo, para el radical ABTS, los valores fueron mayores y no se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre CABA 01, CABA 02 y pectina cítrica, los valores fueron  $50.43 \pm 4.03$ ,  $47.83 \pm 7.97$  y  $42.75 \pm 5.86 \%$ , respectivamente. La Tabla 13 también muestra la actividad antioxidante de las pectinas de estudio en términos de equivalentes de ácido ascórbico ( $\mu\text{g/g}_{\text{pectina}}$ ).

Los valores de la actividad antioxidante contra DPPH son menores a lo reportado en polisacáridos pécticos de *Gardenia jasminoides*, pectina de bayas de espino, de manzana y okra, donde se ha reportado que a concentraciones de 0.47, 0.2, 0.25 y 0.38%, respectivamente, inhibieron el 50% del radical DPPH (Chen et al., 2020; Xiong et al., 2021). Por otra parte, la actividad antioxidante determinada por el método ABTS es similar a lo reportado por Xiong et al. (2021) en pectina de okra, quienes reportaron 50% de inhibición del radical a una concentración de 0.47% de pectina de okra. Sin embargo, la actividad antioxidante por ABTS de pectinas de tuna es menor a lo reportando para algunas pectinas de manzana, Wikiera et al. (2021) reportaron 50% de inhibición del radical ABTS con 0.245% de pectina de manzana. La pectina cítrica del presente trabajo mostró mayor actividad antioxidante que la evaluada por Huang, Lu, Wang, y Wu (2011), quienes reportaron una inhibición del 1% del radical DPPH a una concentración de pectina del 1%.

La actividad antioxidante de las pectinas depende de diversos factores como la masa molecular, estructura y conformación, lo cual está determinado por la fuente de éstas y de los métodos de extracción y purificación, sin embargo, en diversos estudios se ha observado que el grado de esterificación no se relaciona con la actividad antioxidante (Liu et al., 2016). Se ha observado que a mayor contenido

de ácidos urónicos la actividad antioxidante incrementa, debido a la presencia de grupos hidroxilos libres que son capaces de donar hidrógenos y estabilizar los radicales DPPH y ABTS. La pectina cítrica al tener un mayor porcentaje de ácido galacturónico, respecto a las pectinas de tuna, mostró mayor capacidad de atrapar al radical DPPH (Wei et al., 2018). Además, la actividad antioxidante está relacionada a la presencia de ácido ferúlico, el cual es un compuesto fenólico capaz de donar hidrógenos. La pectina cítrica presentó mayor porcentaje de ácido ferúlico respecto a las pectinas de tuna confirmando la relación mencionada previamente (Karnik et al., 2016).

Se ha demostrado que la presencia de unidades de monosacáridos que tienen grupos hidroxilo incrementan la actividad antioxidante, debido a que pueden donar un protón y reducir los radicales (Buathongjan et al., 2020)

Se ha observado que la pectina tiene mejor actividad antioxidante cuando su viscosidad no es tan alta, debido a que la viscosidad interfiere en la interacción entre los grupos hidroxilos y los radicales, por lo que la pectina cítrica al ser menos viscosa que las pectinas de tuna, pudo ser más eficaz para inhibir el radical DPPH (Wathoni et al., 2019). Estos resultados confirman que las pectinas de tuna y cítrica pueden actuar como donadores de protones y puede atrapar los radicales libres DPPH y ABTS (Xu et al., 2018).

**Tabla 13.** Actividad antioxidante de pectinas de tuna (CABA 01, CABA 02) y cítrica. Se evaluaron soluciones acuosas de 4 mg/mL de pectinas.

	DPPH		ABTS	
	% captación	$\mu\text{g}_{\text{eq aa}}^*/\text{g}_{\text{pectina}}$	% captación	$\mu\text{g}_{\text{eq aa}}^*/\text{g}_{\text{pectina}}$
CABA 01	25.8 ± 2.42 <sup>b</sup>	741.2 ± 74.2 <sup>b</sup>	50.4 ± 4.0 <sup>a</sup>	695.4 ± 50.8 <sup>a</sup>
CABA 02	22.9 ± 1.68 <sup>b</sup>	650.0 ± 51.4 <sup>b</sup>	47.8 ± 8.0 <sup>a</sup>	717.8 ± 14.0 <sup>a</sup>
Cítrica	36.0 ± 1.00 <sup>a</sup>	1057.2 ± 30.7 <sup>a</sup>	42.8 ± 5.9 <sup>a</sup>	573.8 ± 53.8 <sup>b</sup>

Los valores son los promedios de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra no fueron significativamente diferentes ( $p > 0.05$ , prueba de Tukey). \*Microgramos equivalentes de ácido ascórbico.

## 6.4. Actividad antimicrobiana

### 6.4.1. Concentración mínima inhibitoria

Para la actividad antimicrobiana se probaron soluciones de pectina (mg/mL): 1, 2, 3, 4, 8 y 10 contra *S. aureus* y *E. coli* mientras que para *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida parapsilosis* se utilizaron concentraciones de 6, 8 10 y 12 mg/mL.

Se observó que al incrementar la concentración de pectina CABA 01 la inhibición de *L. monocytogenes* aumentó, logrando inhibir su crecimiento a una concentración de 13 mg/mL. CABA 02 logró inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* a una concentración de 8 y 10 mg/mL, las cuales no fueron diferentes significativamente. Este mismo comportamiento se observó para la pectina cítrica inhibiendo por completo a una concentración de 6 mg/mL. Conforme a ello se estableció la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 13, 8 y 6 mg/mL para CABA 01, CABA 02 y pectina cítrica, respectivamente (Tabla 14).

A una concentración de 13 mg/mL CABA 01 logró inhibir el crecimiento de *S. aureus*. CABA 02 inhibió por completo a *S. aureus* a concentraciones de 8 y 10 mg/mL mientras que la pectina cítrica desde 4 mg/mL inhibió por completo y no presentó diferencia significativa a concentraciones de 8 y 10 mg/mL. Por lo tanto, la concentración mínima inhibitoria de las pectinas contra *S. aureus* fueron 13 mg/mL para CABA 01, 8 mg/mL para CABA 02 y 4 mg/mL para cítrica.

La actividad antimicrobiana de pectinas contra *Staphylococcus aureus* ha sido observada por Abdel-Massih, Hawach & Daoud (2015), quienes encontraron una CMI de 3.125 mg/mL en pectina cítrica, mientras que Presentato et al. (2020) encontraron valores mayores de CMI de pectina cítrica (40 mg/mL) y CMI menores para pectinas de limón y toronja (2 mg/mL).

La pectina CABA 01 disminuyó el crecimiento de *E. coli* a concentraciones de 1 y 2 mg/mL, las cuales no fueron significativamente diferentes. A concentraciones de 3 y 4 mg/mL la disminución del crecimiento de *E. coli* continuó, sin embargo, entre

ellas no hubo diferencia significativa. A concentraciones de 8 y 10 mg/mL el comportamiento se mantuvo, sin embargo, no se alcanzó a inhibir por completo el crecimiento de *E. coli*. Para CABA 02 se observó una disminución del crecimiento de *E. coli* a medida que se incrementó la concentración de la pectina hasta una concentración de 8 y 10 mg/mL, en donde se alcanzó la inhibición completa del microorganismo y no se observó diferencia significativa entre estas concentraciones. La pectina cítrica presentó el mismo efecto que la pectina CABA 02. De acuerdo con lo observado, la concentración mínima inhibitoria de CABA 01 fue 13 mg/mL y para CABA 02 y pectina cítrica fue 8 mg/mL como se observa en la Tabla 14, sin descartar que puede ser menor a este valor ya que no se exploraron concentraciones entre 4 y 8 mg/mL. Estos valores son mayores a las concentraciones de 1 y 0.7 mg/mL que se han reportado para inhibir el crecimiento de *E. coli* con pectinas de mora y manzana (Kumar et al., 2020; Mathur et al., 2011).

**Tabla 14.** Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de pectinas de tuna (CABA 01 y CABA 02) y cítrica contra algunos patógenos ( $X_0=10^5$  UFC/mL)

Microorganismo	CMI (mg/mL)		
	CABA 01	CABA 02	Cítrica
<i>Listeria monocytogenes</i>	13	8	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	8	4
<i>Escherichia coli</i>	13	8	8
<i>Shigella flexneri</i>	10	6	6
<i>Salmonella</i> sp.	>12	8	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>12	12	>12
<i>Candida parapsilosis</i>	6	6	4

*Shigella flexneri* fue inhibida a una concentración de 6 mg/mL de CABA02 y pectina cítrica, mientras que CABA 01 requirió estar en una concentración de 10 mg/mL. La actividad antimicrobiana de pectinas contra este patógeno no ha sido estudiada, sin embargo, son concentraciones similares a las encontradas contra otros patógenos gram negativos, por lo que estos resultados se pueden utilizar como referencia para próximos estudios (Presentato et al., 2020).

Se inhibió el crecimiento de *Salmonella* sp. en presencia de pectina CABA 02 a partir del 8 mg/mL mientras que en presencia de pectina cítrica se observó la completa inhibición a una concentración de 10 mg/mL. En presencia de la pectina CABA 01 a 12 mg/mL aún se observó crecimiento. Estas CMI fueron mayores a lo reportado en pectina de mora por Kumar et al. (2020) quienes inhibieron *Salmonella typhi* a una concentración de 1 mg/mL, sin embargo, en el trabajo no se dan detalles de la concentración inicial de *S. typhi*.

*Pseudomonas aeruginosa* fue inhibida por CABA 02 a una concentración de 12 mg/mL; sin embargo, en presencia de CABA 01 y cítrica, a la misma concentración, se observó crecimiento. La actividad antimicrobiana contra este patógeno ha sido estudiada por Presentato et al. (2020), quienes observaron que la pectina de toronja inhibió el crecimiento a una concentración de 10 mg/mL mientras que la pectina de limón y la pectina cítrica comercial lograron el mismo efecto a una concentración de 20 mg/mL.

*Candida parapsilosis* fue inhibida por completo por las pectinas de tuna a concentraciones de 6, 8 y 10 mg/mL, sin diferencia significativa entre ellas, mientras que la pectina cítrica la inhibió a partir de 4 mg/mL, por lo que las CMI fueron 6 mg/mL para CABA 01 y CABA 02 y 4 mg/mL para pectina cítrica. La actividad antifúngica de pectinas no ha sido explorada.

La pectina CABA 01 mostró menor inhibición contra los microorganismos en estudio, respecto a CABA 02 y cítrica, esto puede deberse a que la pectina CABA 01 tiene menor porcentaje de ácido ferúlico, el cual se ha reportado que es capaz de inhibir el crecimiento de patógenos a una concentración de 0.015%

(Ijabadeniyi, Govender, Olagunju, & Oyedeji, 2021) debido a que es capaz de desestabilizar e incrementar la permeabilidad de la membrana citoplasmática, además de inhibir enzimas y la síntesis de ácidos nucleicos (Borges et al., 2013). Además, en solución, la pectina CABA 01 tiene un mayor pH (4.5) en comparación a CABA 02 y pectina cítrica (4 y 3, respectivamente), lo cual influye en el crecimiento de microorganismos. Por otra parte, el pH de las soluciones de pectina es menor al valor de su respectivo  $pK_a$ , por lo tanto, en solución los grupos carboxilo del ácido galacturónico no están disociados, lo cual pudiese facilitar su posible interacción con moléculas de la pared celular (peptidoglucano, ácido lipoteicoico, ácido teicoico, lipopolisacáridos) afectando la permeabilidad de la célula provocando la muerte celular. Sin, embargo, no existen aún suficientes estudios sobre el mecanismo antibiótico de pectinas. Mazitova, Fish, Kivman, & Kulinich (1988) estudiaron la actividad antimicrobiana de pectinas de manzana y cítrica contra *E. coli* a pH ácido y neutro y no observaron diferencia significativa entre los tratamientos.

El microorganismo en el cual se observó menor actividad antimicrobiana fue *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista que posiblemente ha desarrollado mecanismos de resistencia a diferentes antibióticos (Pang, Raudonis, Glick, Lin, & Cheng, 2019).

Li et al., (2023) mencionan que los polisacáridos vegetales se adhieren a la pared celular de las bacterias y muestran propiedades antimicrobianas a través de varios mecanismos. Los mecanismos principales implican la alteración de la permeabilidad de la membrana celular, impedir la unión de bacterias patógenas a la célula huésped y obstruir el transporte transmembrana de nutrientes o fuentes de energía para obstaculizar el metabolismo energético bacteriano.

El mecanismo por el cual las pectinas tiene actividad antimicrobiana aún no ha sido dilucidado, sin embargo, existen distintas teorías. Daoud, Sura, & Abdel-Massih (2013) reportaron que la pectina cítrica interfiere en la habilidad de *Helicobacter pylori* para colonizar tejidos humanos, Mazitova et al. (1988)

observaron que las pectinas, cítrica y de manzana interfieren en la habilidad de los microorganismos de adherirse a los receptores de las células susceptibles.

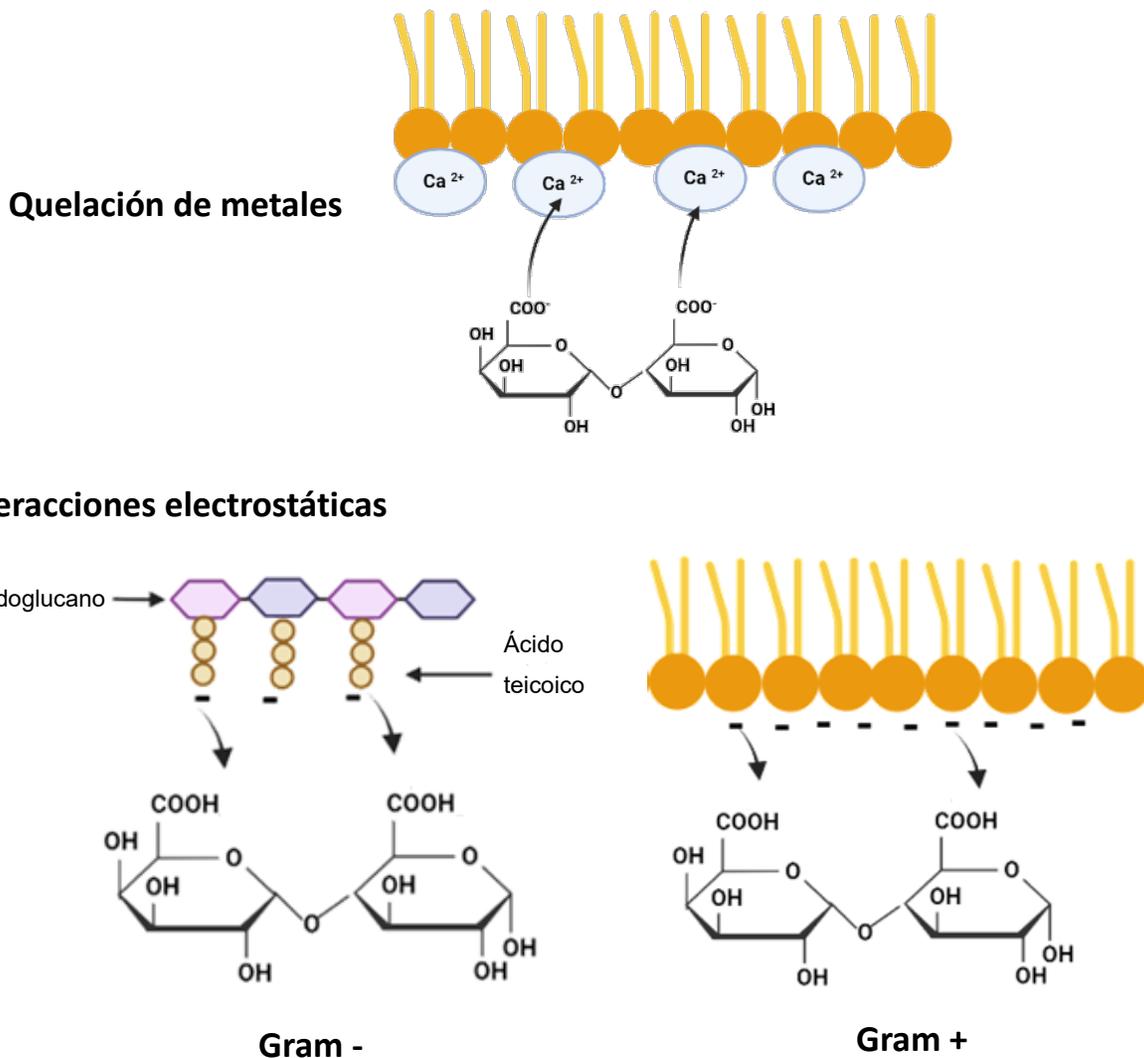
Jain et al. (2014) mencionan dos principales mecanismos por los que los polímeros, como el quitosano, son capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos en función del pH. A pH menor a su  $pK_a$  la molécula se protona provocando interacciones electrostáticas entre el polímero y la pared celular, mientras que a pH mayores al  $pK_a$  se producen interacciones hidrofóbicas y quelación. En las pectinas en estudio, el pH estuvo por debajo del  $pK_a$ , lo que sugiere que los grupos funcionales, principalmente los COOH de los ácidos galacturónicos no esterificados, se encuentran no disociados, facilitando la interacción con moléculas con carga negativa o con grupos funcionales electronegativos de la pared celular microbiana como se observa en la Figura 14. Otro mecanismo por el cual la pectina puede tener actividad antimicrobiana es que al poseer carga negativa puede inhibir el crecimiento de las bacterias a través de la quelación de cationes esenciales para el crecimiento bacteriano (Wang et al., 2021).

#### **6.4.2. Permeación de membrana con cristal violeta**

Para observar el daño ocasionado por las pectinas a nivel de la membrana celular se utilizó cristal violeta, el cual es absorbido en mayor cantidad por las células que presentan una alteración en la permeabilidad de su membrana. En este ensayo se colocaron los microorganismos en presencia de las pectinas a la concentración mínima inhibitoria durante 18 h y después se adicionó el cristal violeta.

En la Figura 10 se muestran los resultados del porcentaje de captación de cristal violeta en las células bacterianas en presencia de las pectinas CABA 01, CABA 02 y cítrica a sus concentraciones mínimas inhibitorias (Tabla 14). Se observó que en todos los patógenos no hubo diferencia significativa entre el porcentaje de captación en presencia de las pectinas de tuna, pero fueron significativamente mayores a los porcentajes del control, a excepción de *Pseudomonas aeruginosa* donde no se encontró diferencia entre el control y en presencia de CABA 01. Estos

resultados concuerdan con lo observado en la determinación de la concentración mínima inhibitoria, ya que a la concentración probada no logró inhibir el crecimiento por completo de este microorganismo.

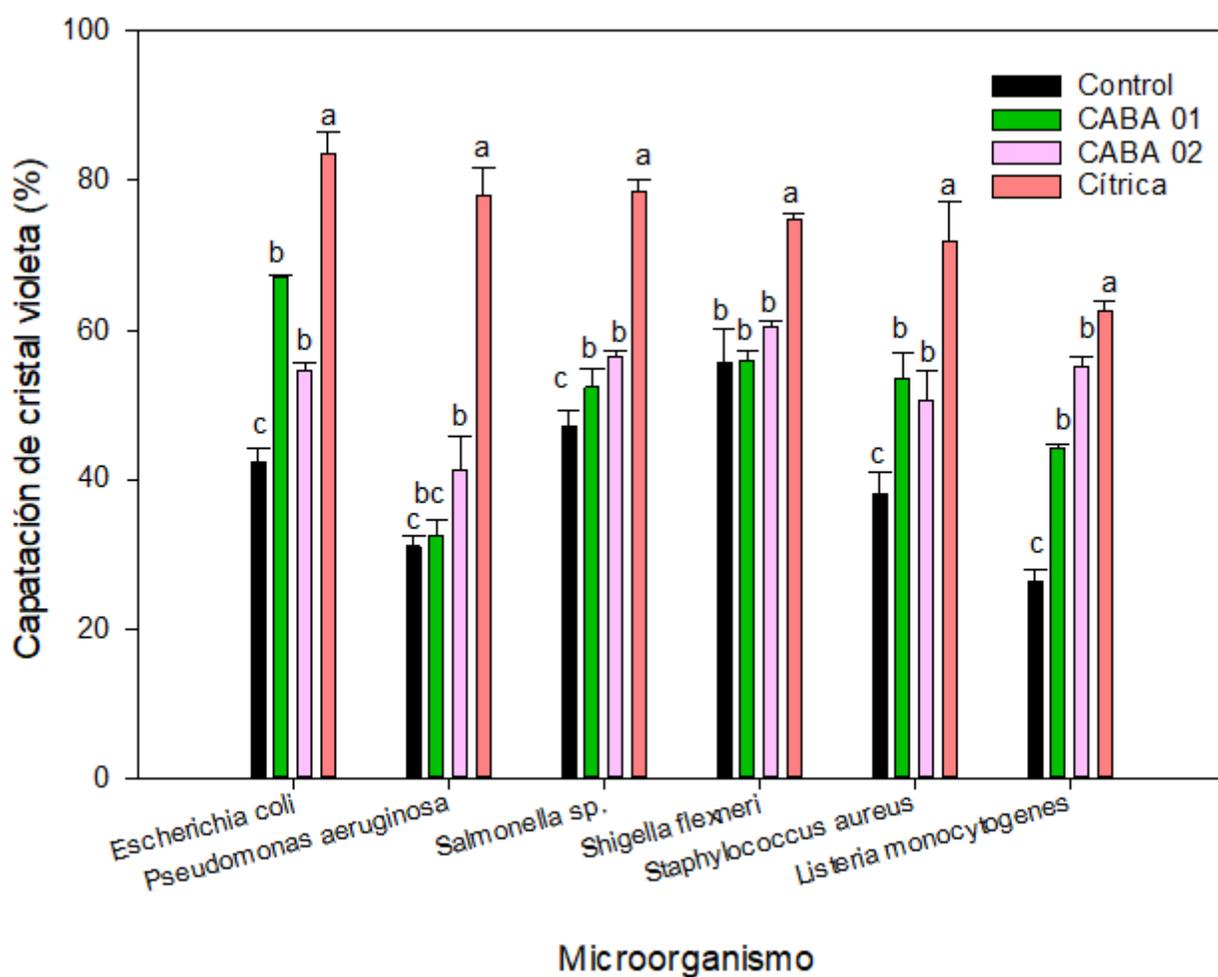


**Figura 14.** Posibles interacciones entre la pectina y la membrana de microorganismos.

Además, se observó que las células de todos los patógenos en estudio, en presencia de la pectina cítrica presentaron mayores porcentajes de captación de cristal violeta y fueron diferentes significativamente al control, por lo que se puede inferir que esta pectina genera mayor daño en las células patógenas permitiendo

mayor absorción del cristal violeta (Hernandez-Valdepena et al., 2021). Estos resultados concuerdan con lo observado en la determinación de la concentración mínima inhibitoria, donde se requirieron menores concentraciones de pectina cítrica para inhibir el crecimiento de las bacterias.

Con esta prueba se puede inferir que el principal mecanismo de acción de las pectinas es la interacción con las membranas, afectando su permeabilidad. Sin embargo, se requieren más investigaciones para entender el mecanismo de acción de las pectinas contra microbios patógenos de interés alimentario.



**Figura 15.** Porcentaje de captación de cristal violeta de patógenos en presencia de pectinas a la concentración mínima inhibitoria.

## 7. Conclusiones

El análisis de los grupos funcionales comprobó que los polisacáridos extraídos de cáscara de tuna (*Opuntia albicarpa*) son pectinas de bajo metoxilo. Las pectinas de tuna son heteropolisacáridos que poseen galactosa, arabinosa ramnosa, glucosa, masa molar alta ( $M_w$ : 193 a  $241 \times 10^3$  g/mol), ácido ferúlico (0.26 a 0.31%) y proteína dentro de su composición, mientras que la pectina cítrica carece de galactosa, presenta mayor contenido de ácido ferúlico (0.39%) y menor masa molar ( $M_w$ :  $50.9 \times 10^3$  g/mol).

Las pectinas de tuna y cítrica tienen la capacidad de inhibir los radicales ABTS y DPPH a una concentración de 0.4%, dándole un potencial como antioxidante natural para ser aplicado en la industria alimentaria.

Las pectinas de tuna y cítrica inhibieron el crecimiento de bacterias gram positivas (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*), gram negativas (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*) y una levadura (*Candida parapsilopsis*), proveyendo una alternativa a los antimicrobianos sintéticos.

## 8. Referencias

- Abdel-Massih, R.M., Hawach, V., & Daoud, Z. (2015). Antibacterial and anti-proliferative activity of different forms of Citrus pectin. *J Nutr Food Sci*, 5:4.
- 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
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. Kjeldahl Method (920.152). Protein in fruit products. Washington D.C.
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. J. M. D. R. (2013). Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb Drug Resist*, 19(4), 256-265.
- Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2001). Antioxidant Principles from Bauhinia tarapotensis. *Journal of Natural Products*, 64(7), 892-895. doi:10.1021/np0100845
- Buathongjan, C., Israkarn, K., Sangwan, W., Outrequin, T., Gamonpilas, C., & Methacanon, P. (2020). Studies on chemical composition, rheological and antioxidant properties of pectin isolated from Riang (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) pod. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 4575-4582.
- Çavdaroğlu, E., Farris, S., & Yemenicioğlu, A. (2020). Development of pectin–eugenol emulsion coatings for inhibition of *Listeria* on webbed-rind melons: a comparative study with fig and citrus pectins. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(4), 1448-1457.
- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118-139. doi:10.1016/j.carbpol.2016.12.033
- 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
- Chatjigakis, A. K., Pappas, C., Proxenia, N., Kalantzi, O., Rodis, P., & Polissiou, M. (1998). FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes. *Carbohydrate Polymers*, 37, 14.
- Chen, Q., Xue, G., Ni, Q., Wang, Y., Gao, Q., Zhang, Y., & Xu, G. (2020). Physicochemical and rheological characterization of pectin-rich

- polysaccharides from *Gardenia jasminoides* J. Ellis flower. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3335-3345. doi:<https://doi.org/10.1002/fsn3.1612>
- Chen, R., Jin, C., Tong, Z., Lu, J., Tan, L., Tian, L., & Chang, Q. (2016). Optimization extraction, characterization and antioxidant activities of pectic polysaccharide from tangerine peels. *Carbohydrate Polymers*, 136, 187-197. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.036>
- Ciriminna, R., Chavarría-Hernández, N., Hernández, A. R., & Pagliaro, M. (2015). Pectin: A New Perspective from the Biorefinery Viewpoint. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 9 (4), 368-377.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Scurria, A., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2022). Pectin: New science and forthcoming applications of the most valued hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, 127. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107483
- Conti, S., Vexler, A., Hagoel, L., Kalich-Philosoph, L., Corn, B. W., Honig, N., . . . Lev-Ari, S. (2018). Modified Citrus Pectin as a Potential Sensitizer for Radiotherapy in Prostate Cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 17(4), 1225-1234. doi:10.1177/1534735418790382
- Daoud, Z., Sura, M., & Abdel-Massih, R. M. (2013). Pectin shows antibacterial activity against *Helicobacter pylori*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4, 273-277.
- Delphi, L., & Sepehri, H. (2016). Apple pectin: A natural source for cancer suppression in 4T1 breast cancer cells in vitro and express p53 in mouse bearing 4T1 cancer tumors, in vivo. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 637-644. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.080>
- Dranca, F., Vargas, M., & Oroian, M. (2020). Physicochemical properties of pectin from *Malus domestica* 'Fälticeni' apple pomace as affected by non-conventional extraction techniques. *Food Hydrocolloids*, 100. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105383
- Donchenko, L. V., Sokol, N. V., Sanzharovskaya, N. S., Khrapko, O. P., & Mikhaylova, T. A. (2020, May). Functional role of pectin in the bakery technology. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 488, No. 1, p. 012010). IOP Publishing.
- Edashige, Y., Murakami, N., & Tsujita, T. (2008). Inhibitory Effect of Pectin from the Segment Membrane of Citrus Fruits on Lipase Activity. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 54(5), 409-415. doi:10.3177/jnsv.54.409
- 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.
- Estrada-Girón, Y., Cabrera-Díaz, E., Esparza-Merino, R. M., Martín-del-Campo, A., & Valencia-Botín, A. J. (2020). Innovative edible films and coatings based on red color pectin obtained from the byproducts of *Hibiscus sabdariffa* L. for strawberry preservation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3371-3380. doi:10.1007/s11694-020-00577-z

- FAO. (1995). Ratificación y/o revisión de disposiciones sobre aditivos alimentarios y/o coadyuvantes de elaboración incluidas en las normas del CODEX Retrieved from <https://www.fao.org/3/j2262s/j2262s04.htm>
- Filiseti-Cozzi, T. M. C. C., & Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, *197*(1), 157-162. doi:[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90372-Z](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90372-Z)
- Freitas, C. M. P., Coimbra, J. S. R., Souza, V. G. L., & Sousa, R. C. S. (2021). Structure and Applications of Pectin in Food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. *Coatings*, *11*(8), 922.
- Gañan, M., Martínez-Rodríguez, A. J., & Carrascosa, A. V. (2009). Antimicrobial activity of phenolic compounds of wine against *Campylobacter jejuni*. *Food Control*, *20*(8), 739-742. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.09.012>
- Geserick, P., Hupe, M., Moulin, M., Wong, W. W., Feoktistova, M., Kellert, B., . . . Leverkus, M. (2009). Cellular IAPs inhibit a cryptic CD95-induced cell death by limiting RIP1 kinase recruitment. *J Cell Biol*, *187*(7), 1037-1054. doi:10.1083/jcb.200904158
- Gómez, B., Gullón, B., Yáñez, R., Schols, H., & Alonso, J. L. (2016). Prebiotic potential of pectins and pectic oligosaccharides derived from lemon peel wastes and sugar beet pulp: A comparative evaluation. *Journal of Functional Foods*, *20*, 108-121.
- Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Faleiro, M. L., Miguel, M. G. C., & Antunes, M. D. C. (2017). The effect of edible coatings on the nutritional quality of 'Bravo de Esmolfe' fresh-cut apple through shelf-life. *LWT*, *75*, 210-219. doi:10.1016/j.lwt.2016.08.052
- Hernández-Valdepeña, M. A., Hernández-Valencia, C. G., Labra-Vázquez, P., Wachter, C., Díaz-Ruiz, G., Vazquez, A., . . . Gimeno, M. (2021). Antioxidant and antimicrobial material by grafting of L-arginine onto enzymatic poly(gallic acid). *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, *121*, 111650. doi:10.1016/j.msec.2020.111650
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., Kazemi, M., & Najari, Z. (2019). Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. *Int J Biol Macromol*, *125*, 621-629. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.096>
- Huang, P.-H., Lu, H.-T., Wang, Y.-T., & Wu, M.-C. (2011). Antioxidant Activity and Emulsion-Stabilizing Effect of Pectic Enzyme Treated Pectin in Soy Protein Isolate-Stabilized Oil/Water Emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(17), 9623-9628. doi:10.1021/jf202020t
- Ijabadeniyi, O. A., Govender, A., Olagunju, O. F., & Oyedeji, A. B. (2021). The antimicrobial activity of two phenolic acids against foodborne *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* and their effectiveness in a meat system. *Italian Journal of Food Science*, *33*(1), 39-45. doi:10.15586/ijfs.v33i1.1933

- Isusi, G. S., Lohner, N., Karbstein, H. P., & van der Schaaf, U. S. (2021). Emulsions stabilised with pectin-based microgels: Investigations into the break-up of droplets in the presence of microgels. *Journal of Food Engineering*, 294, 110421.
- Jain A, Duvvuri L.S., Farah S., Beyth N., Domb A.J., Khan W. (2014). Antimicrobial polymers. *Adv Healthc Mater.* 3(12), 1969-85. doi: 10.1002/adhm.201400418.
- Kalegowda, P., Singh Chauhan, A., & Mysore Nanjaraj Urs, S. (2017). *Opuntia dillenii* (Ker-gawl) haw fruit peel pectin: Physicochemical, rheological, and functional behavior. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13165. doi:https://doi.org/10.1111/jfpp.13165
- 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
- Khubber, S., Chaturvedi, K., Thakur, N., Sharma, N., & Yadav, S. K. (2021). Low-methoxyl pectin stabilizes low-fat set yoghurt and improves their physicochemical properties, rheology, microstructure and sensory liking. *Food Hydrocolloids*, 111, 106240.
- Kumar, R. V., Srivastava, D., Singh, V., Kumar, U., Vishvakarma, V. K., Singh, P., . . . Kumar, R. (2020). Characterization, biological evaluation and molecular docking of mulberry fruit pectin. *Sci Rep*, 10(1), 21789. doi:10.1038/s41598-020-78086-8
- Lara-Espinoza, C., Sánchez-Villegas, J. A., López-Franco, Y., Carvajal-Millan, E., Troncoso-Rojas, R., Carvallo-Ruiz, T., & Rascon-Chu, A. (2021). Composition, Physicochemical Features, and Covalent Gelling Properties of Ferulated Pectin Extracted from Three Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Cultivars Grown under Desertic Conditions. *Agronomy*, 11(1). doi:10.3390/agronomy11010040
- Lenchyk, L., Upyr, T., Mohammed, S., & Komisarenko, M. (2020). Study of Amino Acid Composition of *Prunus Domestica* Fruits Pectin Complex. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*, 6(5). doi:10.11648/j.ijpc.20200605.12
- Li, D., Rui, Y.-x., Guo, S.-d., Luan, F., Liu, R., & Zeng, N. (2021). Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. *Life Sciences*, 284. doi:10.1016/j.lfs.2021.119921
- Li, K., Zhu, L., Li, H., Zhu, Y., Pan, C., Gao, X., & Liu, W. (2019). Structural characterization and rheological properties of a pectin with anti-constipation activity from the roots of *Arctium lappa* L. *Carbohydrate polymers*, 215, 119-129.
- Li, S., Li, T., Zhu, R., Wang, N., Song, Y., Wang, S., & Guo, M. J. I. J. O. F. P. (2013). Antibacterial action of haw pectic oligosaccharides. *International Journal of Food Properties*, 16(3), 706-712.

- Li, S., Jiang, S., Jia, W., Guo, T., Wang, F., Li, J., & Yao, Z. (2023). Natural antimicrobials from plants: Recent advances and future prospects. *Food Chemistry*, 137231.
- Lira-Ortiz, A. L., Reséndiz-Vega, F., Ríos-Leal, E., Contreras-Esquivel, J., 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
- Liu, S., Shi, X., Xu, L., & Yi, Y. (2016). Optimization of pectin extraction and antioxidant activities from Jerusalem artichoke. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(2), 372-381. doi:10.1007/s00343-015-4314-4
- Lv, Y., Shan, X., Zhao, X., Cai, C., Zhao, X., Lang, Y., . . . Yu, G. (2015). Extraction, Isolation, Structural Characterization and Anti-Tumor Properties of an Apigalacturonan-Rich Polysaccharide from the Sea Grass *Zostera caespitosa* Miki. *Marine Drugs*, 13(6). doi:10.3390/md13063710
- Mahmoud, M. E., & Mohamed, A. K. (2020). Novel derived pectin hydrogel from mandarin peel based metal-organic frameworks composite for enhanced Cr (VI) and Pb (II) ions removal. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 920-931.
- Makarova, E., Górnas, P., Konrade, I., Tirzite, D., Cirule, H., Gulbe, A., ... & Dambrova, M. (2015). Acute anti-hyperglycaemic effects of an unripe apple preparation containing phlorizin in healthy volunteers: a preliminary study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 560-568.
- Martín Del Campo, S. T., Ramírez-Anaya, J. d. P., Pimienta-Barrios, E., Castañeda-Saucedo, M. C., Samaniego-Sánchez, C., & Gómez-Hernández, H. E. (2019). Identifying non-destructive growth and maturity indexes of Prickly pear (*Opuntia albicarpa* S. Var. Burróna) and evaluation of freeze-drying conditions. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 917-925.
- 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
- Mathur, A., Sharma, V., Bhardwaj, A., Yousuf, S., Verma, S., Singh, S., & Dua, V. (2011). Pectin content as an index for screening different varieties of apple (*Pyrus malus* L.) of Kashmir (J&K) on the basis of antimicrobial activity. *J CPR*, 3, 886-891.
- Mazitova, O. P., Fish, N. G., Kivman, G. Y., & Kulinich, L. I. (1988). Effect of pectins on *E. Coli* adhesion to target cells. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 22(4), 267-270. doi:10.1007/BF00768240
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 266-277. doi:https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.006

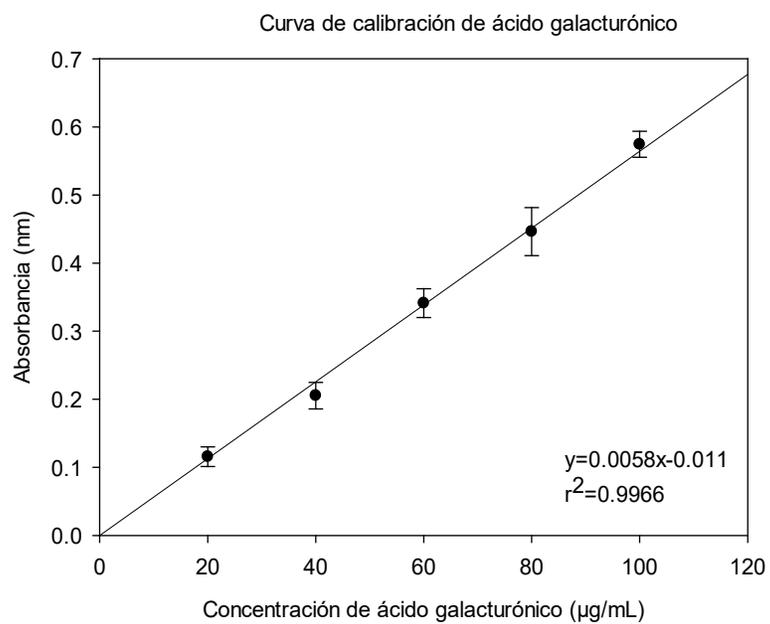
- Morales-Martínez, Y., López-Cuellar, M.R., Chavarría-Hernández, N., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2018). Rheological behaviour of acetylated pectins from cactus pear fruits (*Opuntia albicarpa* and *O. matudae*). *Food Hydrocolloids*, *85*, 110-119. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.07.009
- Mota, J., Muro, C., Illescas, J., Hernández, O. A., Tecante, A., & Rivera, E. (2020). Extraction and Characterization of Pectin from the Fruit Peel of *Opuntia robusta*. *ChemistrySelect*, *5*(37), 11446-11452. doi:10.1002/slct.202002181
- Muhammad, K., Zahari, N. I., Gannasin, S. P., Mohd. Adzahan, N., & Bakar, J. (2014). High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel. *Food Hydrocolloids*, *42*, 289-297. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.03.021
- Muhidinov, Z. K., Ikromi, K. I., Jonmurodov, A. S., Nasriddinov, A. S., Usmanova, S. R., Bobokalonov, J. T., . . . Liu, L. (2021). Structural characterization of pectin obtained by different purification methods. *Int J Biol Macromol*, *183*, 2227-2237. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.094
- Muñoz-Almagro, N., Herrero-Herranz, M., Guri, S., Corzo, N., Montilla, A., & Villamiel, M. (2021). Application of sunflower pectin gels with low glycemic index in the coating of fresh strawberries stored in modified atmospheres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(14), 5775-5783. doi:https://doi.org/10.1002/jsfa.11226
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*, *37*(1), 177-192. doi:10.1016/j.biotechadv.2018.11.013
- Pérez-Arauz, Á.O., Rodríguez-Hernández, A.I., López-Cuellar, M.R., Martínez-Juárez, V.M., & Chavarría-Hernández, N. (2021). Films based on Pectin, Gellan, EDTA, and bacteriocin-like compounds produced by *Streptococcus infantarius* for the bacterial control in fish packaging. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(1), e15006. doi:https://doi.org/10.1111/jfpp.15006
- Picot-Allain, M. C. N., Ramasawmy, B., & Emmambux, M. N. (2022). Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Reviews International*, *38*(3), 282-312. doi:10.1080/87559129.2020.1733008
- Pinheiro, P. G., Santiago, G. M. P., da Silva, F. E. F., de Araújo, A. C. J., de Oliveira, C. R. T., Freitas, P. R., ... & da Costa, J. G. M. (2021). Antibacterial activity and inhibition against *Staphylococcus aureus* NorA efflux pump by ferulic acid and its esterified derivatives. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *11*(9), 405.
- Pińkowska, H., Wolak, P., Krzywonos, M., & Złocińska, A. (2021). Comprehensive Study of Hydrothermal Extraction of Pectin From Sugar Beet Pulp. *Waste and Biomass Valorization*, *12*(8), 4587-4598. doi:10.1007/s12649-020-01317-6

- Presentato, A., Piacenza, E., Scurria, A., Albanese, L., Zabini, F., Meneguzzo, F., . . . Ciriminna, R. (2020). A New Water-Soluble Bactericidal Agent for the Treatment of Infections Caused by Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Strains. *Antibiotics*, 9(9), 586.
- Ramadan, M. F., Ayoub, T. E. M., & Rohn, S. (2021). *Opuntia Spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications*: Springer.
- Ravishankar, S., Jaroni, D., Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T., & Friedman, M. (2012). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectin-based apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde. *Journal of food science*, 77(7), M377-M382.
- Rha, H. J., Bae, I. Y., Lee, S., Yoo, S.-H., Chang, P.-S., & Lee, H. G. (2011). Enhancement of anti-radical activity of pectin from apple pomace by hydroxamation. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 545-548. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.08.010
- Ridley, B. L., O'Neill, M. A., Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 39.
- Rivera-Hernández, L., Chavarría-Hernández, N., López Cuellar, M.R., Martínez-Juárez, V. M., & Rodríguez-Hernández, A.I. (2021). Pectin-gellan films intended for active food packaging: release kinetics of nisin and physico-mechanical characterization. *Journal of Food Science and Technology*, 58(8), 2973-2981. doi:10.1007/s13197-020-04800-z
- Rivera-Hernández, L., Chavarría-Hernández, N., Tecante, A., López-Ortega, M. A., López Cuellar, M. 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.
- Ropartz, D., & Ralet, M.-C. (2020). Pectin Structure. In *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 17-36).
- Saeidy, S., Omid, P., Nasirpour, A., & Keramat, J. (2023). Physicochemical and functional properties of cross linked and high pressure homogenized sugar beet pectin: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 134. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108041
- SEMARNAT (2018). Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/index.html>
- Shi, C., Zhang, X., Sun, Y., Yang, M., Song, K., Zheng, Z., . . . Xia, X. (2016). Antimicrobial Activity of Ferulic Acid Against *Cronobacter sakazakii* and Possible Mechanism of Action. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(4), 196-204. doi:10.1089/fpd.2015.1992

- Sood, N., & Mathur, A. J. I. J. B. S. (2013). Evaluation of pharmacological activities of pectin extracted from apple and citrus pomace. *Biolife*, 2(4), 1203-1217.
- Soto-Romero, L. (2019). Evaluación de la capacidad emulsificante de pectina de tuna (*Opuntia albicarpa* S.): Efecto de la proteína estructural. Tesis Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Tabatabaei Moradi, L., Sharifan, A., & Larijani, K. (2020). The effect of multilayered chitosan–pectin–Mentha piperita and lemon essential oil on oxidation effects and quality of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigeration at 4±1 C storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(5), 2544-2559
- Takahashi, H., Takahashi, T., Miya, S., Yokoyama, H., Kuda, T., & Kimura, B. (2015). Growth inhibition effects of ferulic acid and glycine/sodium acetate on *Listeria monocytogenes* in coleslaw and egg salad. *Food Control*, 57, 105-109. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.037>
- 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
- Wang, Z., Sun, Q., Zhang, H., Wang, J., Fu, Q., Qiao, H., & Wang, Q. (2021). Insight into antibacterial mechanism of polysaccharides: a review. *LWT*, 150, 111929.
- Wathoni, N., Yuan Shan, C., Yi Shan, W., Rostinawati, T., Indradi, R. B., Pratiwi, R., & Muchtaridi, M. (2019). Characterization and antioxidant activity of pectin from Indonesian mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind. *Heliyon*, 5(8), e02299. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02299
- Wei, C., He, P., He, L., Ye, X., Cheng, J., Wang, Y., . . . Liu, Y. (2018). Structure characterization and biological activities of a pectic polysaccharide from cupule of *Castanea henryi*. *Int J Biol Macromol*, 109, 65-75. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.081>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163-175. doi:10.1038/nprot.2007.521
- Wikiera, A., Grabacka, M., Byczyński, Ł., Stodolak, B., & Mika, M. (2021). Enzymatically Extracted Apple Pectin Possesses Antioxidant and Antitumor Activity. *Molecules*, 26(5), 1434.
- World Health Organization: WHO. (2020). Resistencia a los antibióticos. <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos>
- Wu, M. C., Li, H. C., Wu, P. H., Huang, P. H., & Wang, Y. T. (2014). Assessment of oligogalacturonide from citrus pectin as a potential antibacterial agent against foodborne pathogens. *J Food Sci*, 79(8), M1541-M1544.

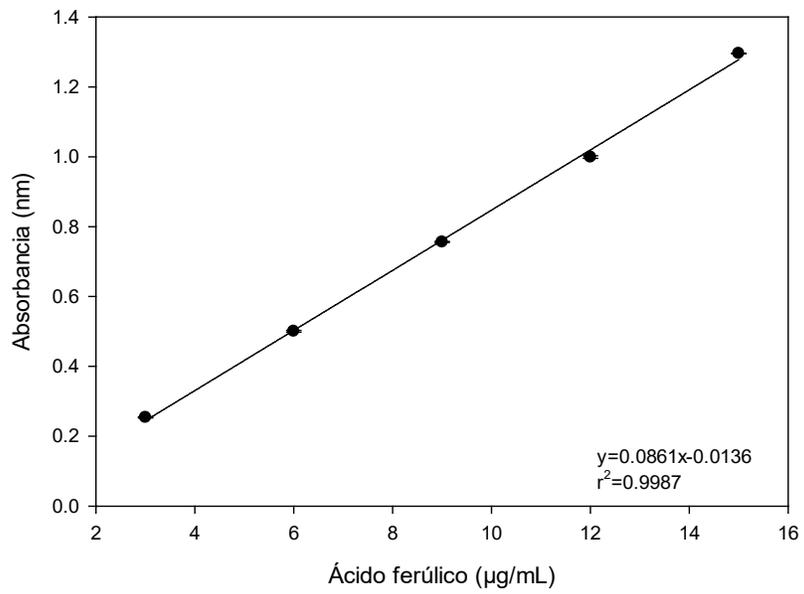
- Wusigale, Liang, L., & Luo, Y. (2020). Casein and pectin: Structures, interactions, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 391-403. doi:10.1016/j.tifs.2020.01.027
- Xiong, B., Zhang, W., Wu, Z., Liu, R., Yang, C., Hui, A., . . . Xian, Z. (2021). Preparation, characterization, antioxidant and anti-inflammatory activities of acid-soluble pectin from okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Int J Biol Macromol*, 181, 824-834. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.202
- Xiong, Y., Li, S., Warner, R. D., & Fang, Z. (2020). Effect of oregano essential oil and resveratrol nanoemulsion loaded pectin edible coating on the preservation of pork loin in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 114, 107226. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107226
- Xu, S.-Y., Liu, J.-P., Huang, X., Du, L.-P., Shi, F.-L., Dong, R., . . . Cheong, K.-L. (2018). Ultrasonic-microwave assisted extraction, characterization and biological activity of pectin from jackfruit peel. *LWT*, 90, 577-582. doi:10.1016/j.lwt.2018.01.007
- Zheng, J., Chen, J., Zhang, H., Wu, D., Ye, X., Linardt, R. J., & Chen, S. (2020). Gelling mechanism of RG-I enriched citrus pectin: Role of arabinose side-chains in cation- and acid-induced gelation. *Food Hydrocolloids*, 101. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105536
- Zofou, D., Shu, G. L., Foba-Tendo, J., Tabouguia, M. O., Assob, J.-C. (2019). In vitro and in vivo anti-Salmonella evaluation of pectin extracts and hydrolysates from "Cas Mango" (*Spondias dulcis*). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.

## Anexo A



## Anexo B

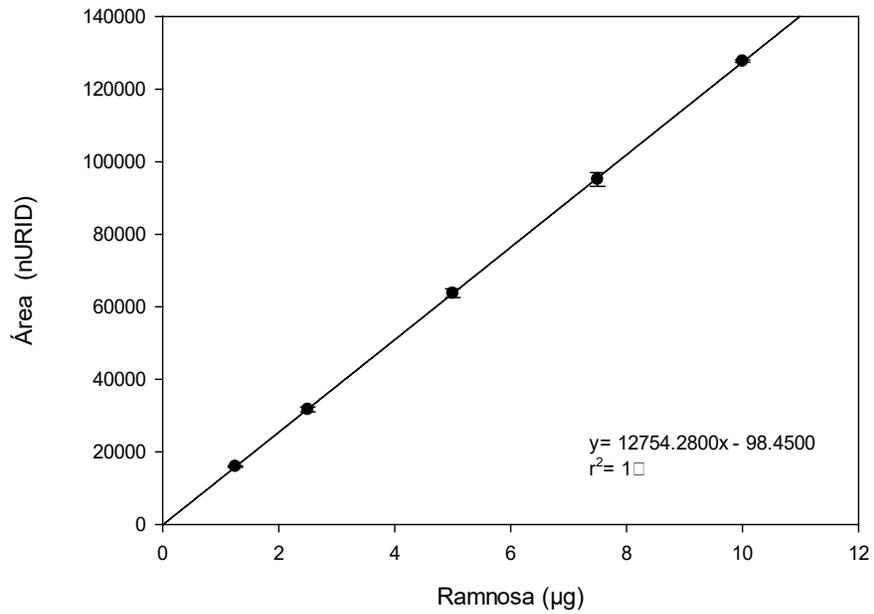
Curva estándar ácido ferúlico



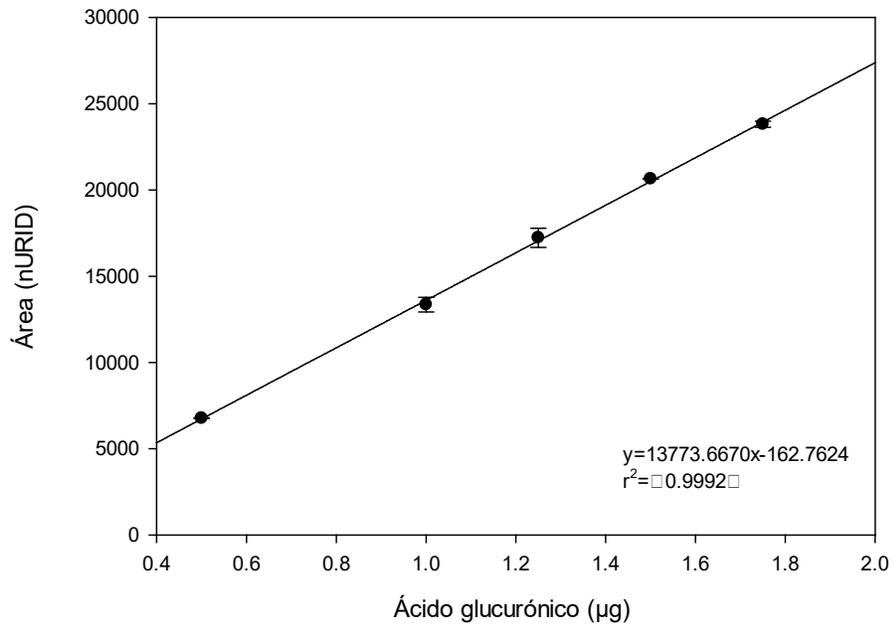
## Anexo C

### Curvas de calibración de monosacáridos

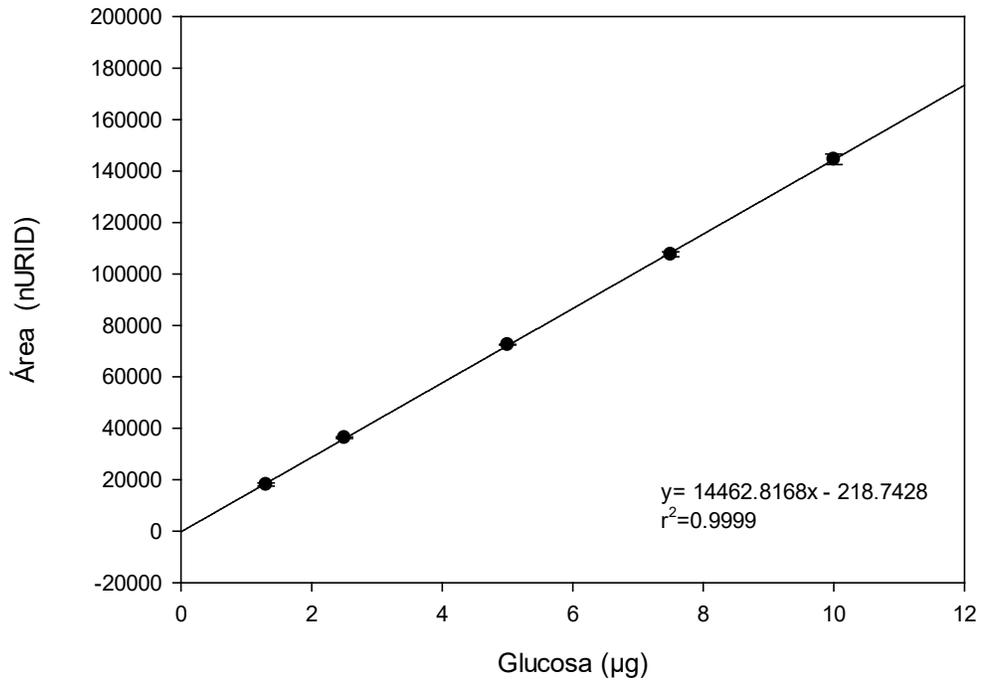
Curva estándar de ramnosa



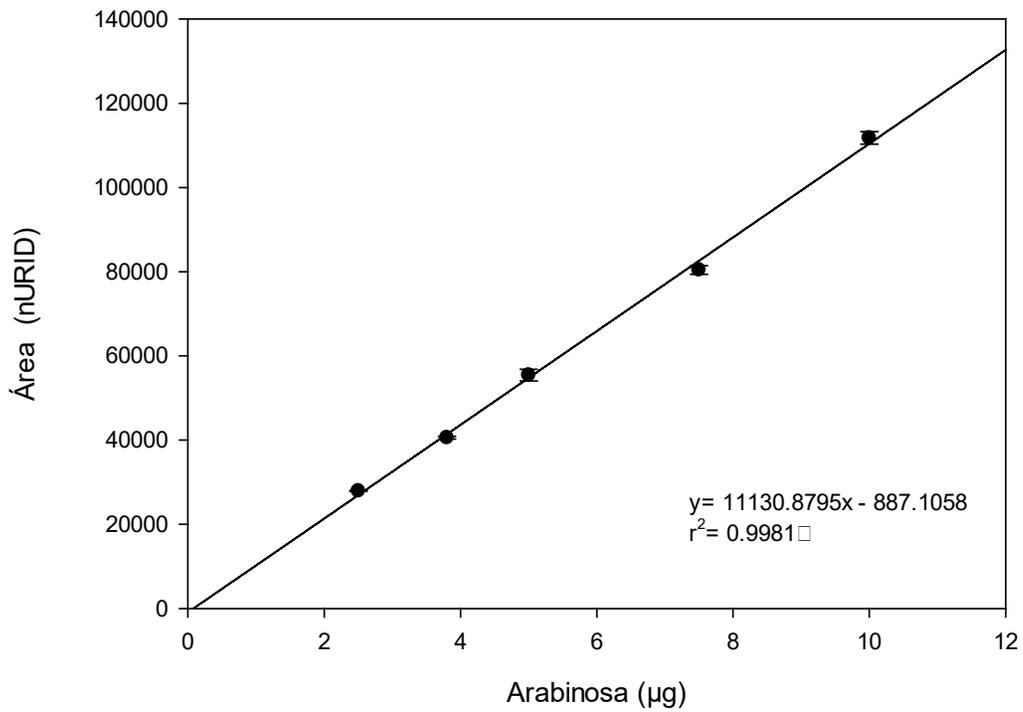
Curva estándar ácido glucurónico



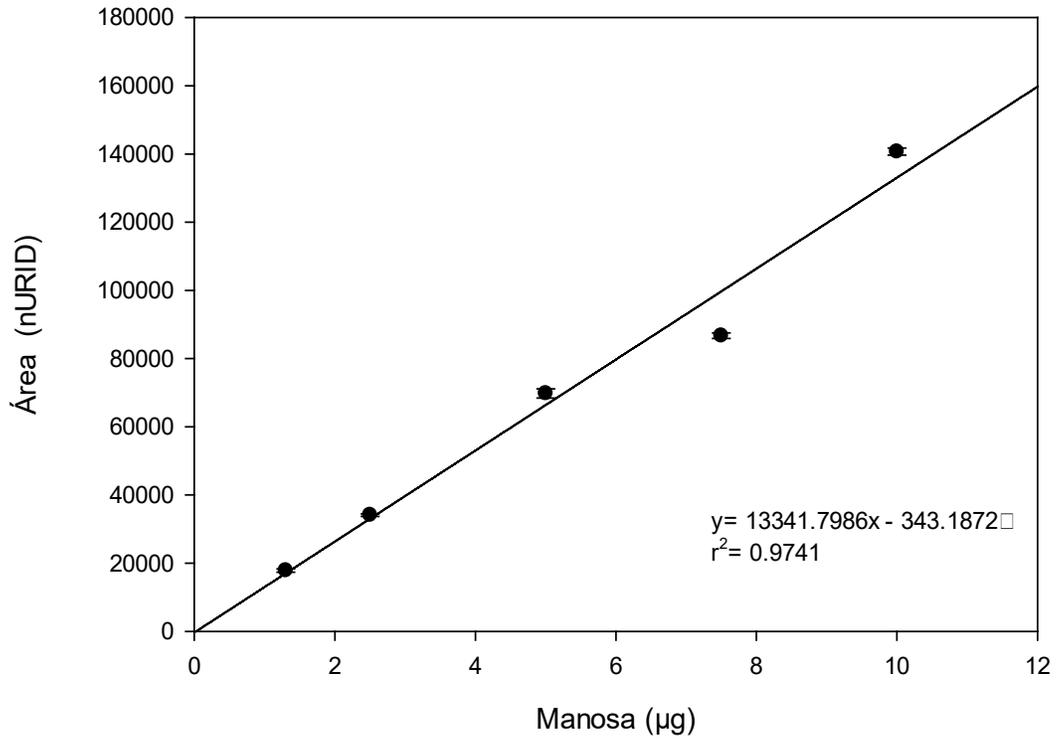
Curva estándar de glucosa



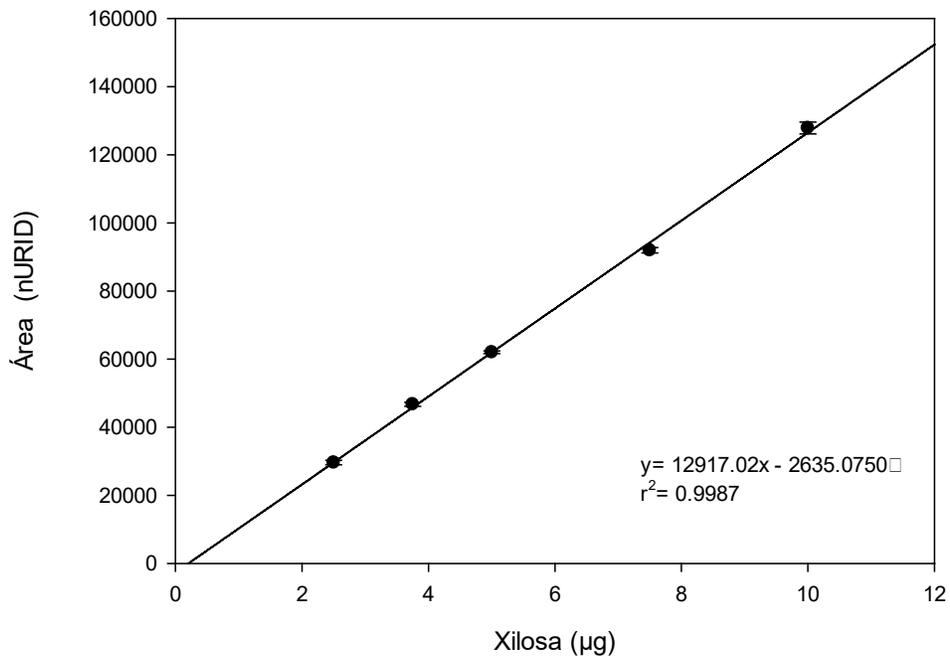
Curva estándar de arabinosa



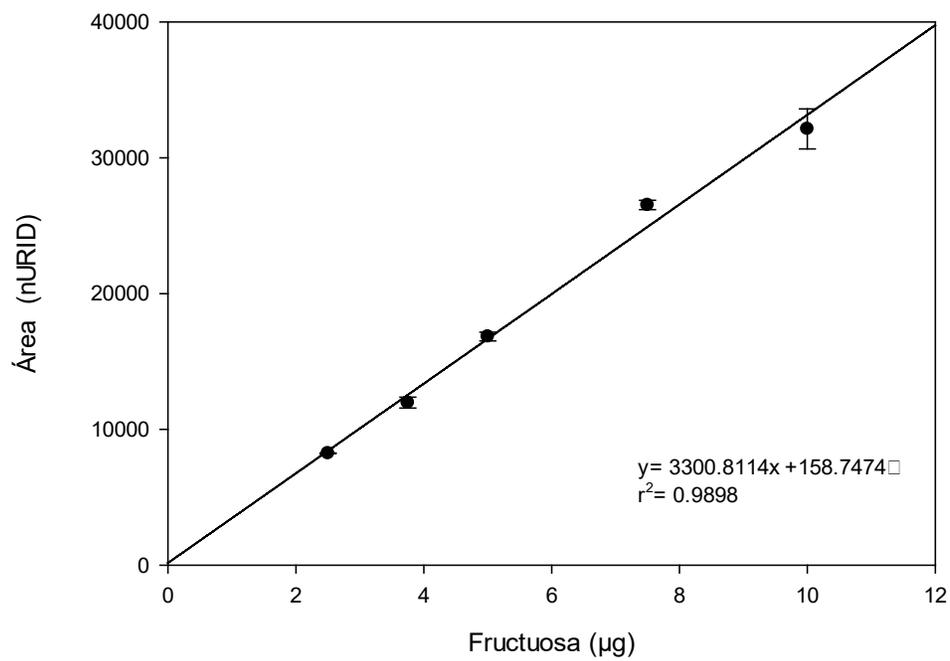
Curva estándar de manosa



Curva estándar de xilosa

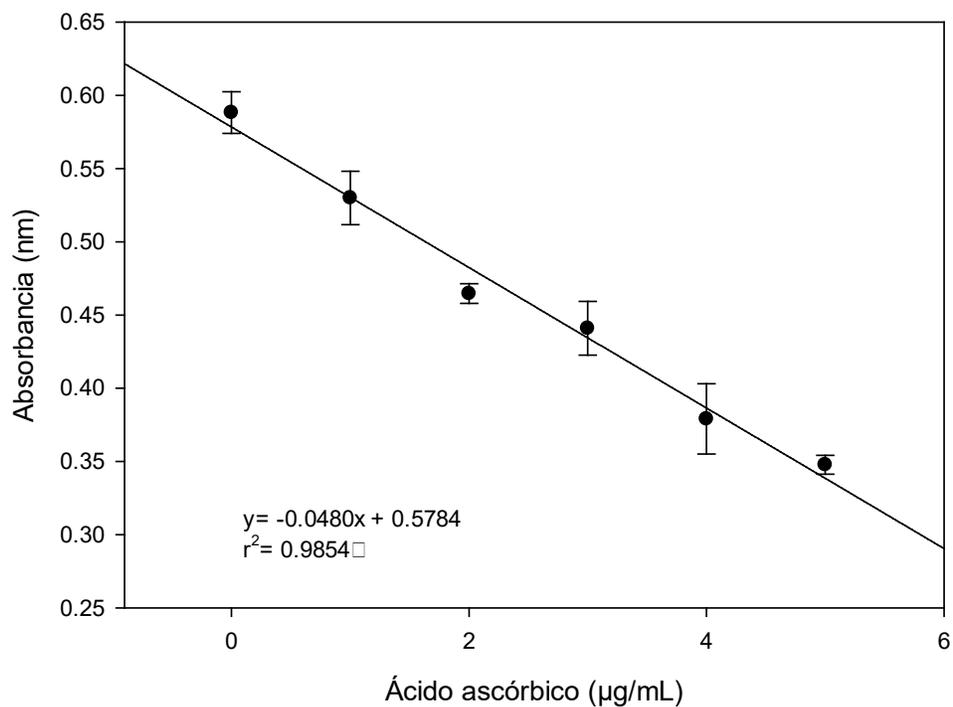


Curva estándar de fructuosa



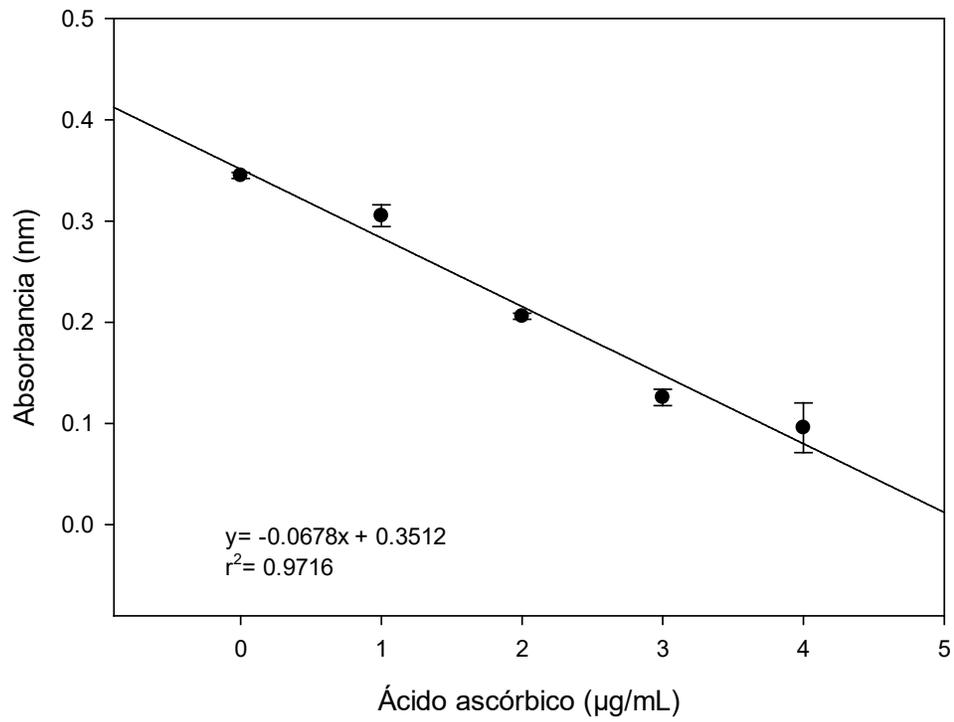
## Anexo D

Curva de calibración de ácido ascórbico con DPPH



## Anexo E

Curva de calibración ácido ascórbico con ABTS





Latin2022  
Food2022  
10th Food Science,  
Biotechnology & Safety Congress  
Asociación Mexicana de Ciencias de los Alimentos S.C.  
MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE

## Mexican Association of Food Science

This certificate is presented to:

**Burgos-González, Carolina; Chavarría-Hernández, Norberto; López-Ortega, Mayra Alejandra; Martínez-Juárez, Víctor Manuel; López-Cuellar, Ma del Rocío; Rodríguez-Hernández, Adriana Inés.**

In recognition for the oral presentation of the work entitled:

### **Pectins from *Opuntia albicarpa*: structural and bioactive properties**

at the 10th Food Science, Biotechnology and Safety Congress Latin Food 2022  
which took place on November 16-18 in Puebla, Mexico.

**Dr. Rosa María Rodríguez Jasso**  
President of AMECA

**Dr. Gilber Vela Gutiérrez**  
President of the Organizing Committee

**Dr. Celeste C. Ibarra Herrera**  
President of the Scientific Committee