

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Departamento Académico de Ciencia Tecnología e

Ingeniería de Alimentos



**" OBTENCION DE PECTINA A PARTIR DEL
EXUDADO DE CACAO (Teobroma cacao Sp) "**

T E S I S

Para Optar el Título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

JORGE LUIS VELA MENDOZA

**TINGO MARIA
PERU**

1997



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
TINGO MARIA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

"AÑO DE LA REFORESTACION: CIEN MILLONES DE ARBOLES"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el Viernes 16 de Mayo de 1997, a horas 6.00 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentada por el Bachiller en Ciencias Industrias Alimentarias: **JORGÉ LUIS VELA MENDOZA**, con el título:

"OBTENCION DE PECTINA A PARTIR DEL EXUDADO DE CACAO (*Theobroma cacao* Sp)"

Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, la declaran aprobada con el Calificativo de BUENO; en consecuencia el Bachiller **JORGE VELA MENDOZA**, queda apto para recibir el Título de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22 de la Ley Orgánica de la Universidad Peruana 23733; con los artículos 43º y 45º del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva; con los artículos 95º y 96º del Reglamento General de la UNAS.

Tingo María, 28 de Mayo de 1997.

Blgo. JULIO GIRALDO HUAYTA
Presidente

Ing. RAMON JULCA ROLDAN
Vocal

Ing. ALIPIO ORPAGA RODRIGUEZ
Vocal

Ing. PEDRO TELAEZ SANCHEZ
Asesor

R E S U M E N

Se presenta un estudio de obtención de pectina, por acción precipitante del alcohol etílico de 95 °G.L. y del sulfato de aluminio, sobre el exudado de cacao, previamente acondicionado a pH 1.9 y tratado térmicamente a 80 °C por un tiempo de 75 minutos.

El alcohol de 95 °G.L. al 70 % fue la sustancia que mejores resultados produjo, lográndose 1.24 % como rendimiento de pectina en el proceso y 95.88 %, como rendimiento de extracción.

La pectina obtenida se caracterizó por ser de calidad media y adecuada para productos dietéticos, ésta presentó 6.32 % de metoxilo, 28.45 % de esterificación (LMP) y un contenido medio de ácido galacturónico de 58.92 %. Complementariamente se determinó que la pectina en solución al 0.5 %, pH 3.2 y 30 °Erix; se comportó como un fluido dilatante, presentando un índice de comportamiento de flujo (n) igual a 1.2296 y un coeficiente (m) igual a 0.0246 Pa sⁿ.

DEDICATORIA

A mis padres
Manuel e Idalia
con profundo cariño
y gratitud, dedico
el presente trabajo.

A mis hermanos:
Gloria María, Izabel Zulema,
Victor Hugo, Zoila Edith,
Nancy Ivon, Pedro Miguel,
David, Nicolas.

A mis sobrinos y sobrinas
Diego Alberto, Manuelito,
Danikza, Nevenka, Slaka.

AGRADECIMIENTOS

- Al Ing. Pedro Peláez Sánchez, asesor del presente trabajo.
- A los Ings. Federico Gallegos y Hugo Vidal, por los momentos compartidos en los años de universidad.
- A todas las personas que de una u otra manera han contribuido a la realización de la presente Tesis.

I N D I C E

I. INTRODUCCION	01
II. REVISION DE LITERATURA	03
A. ORIGEN, CLASIFICACION Y CARACTERISTICAS BOTANICAS DEL CACAO (Teobroma cacao Sp)	03
B. VARIEDADES CULTIVADAS	04
C. COMPOSICION DE LA PULPA DE CACAO	05
D. DERIVADOS DEL FRUTO DE CACAO	06
E. SUSTANCIAS PECTICAS	10
1. Generalidades	10
2. Localización y funciones de las sustancias pécticas	10
3. Definición de sustancias pécticas	11
4. Nomenclatura	12
F. PECTINAS	15
1. Definición	15
2. Estructura	15
3. Localización	17
4. Características	18
a. Características Químicas	18
b. Características Físicas	20
5. Métodos de extracción de pectina	23
a. Por precipitación con solventes orgánicos	25
b. Precipitación con sales metálicas	28
6. Caracterización de las pectinas	29

a. Métodos químicos	29
b. Métodos Físicos	29
c. Métodos Cromatográficos	30
d. Determinación de grupos metil-Acetil en pectinas	30
e. Acetil ester en pectinas	30
7. Propiedades de las Pectinas	31
a. Pectina con alto grado de metilación	33
b. Pectinas de bajo grado de metilación	34
8. Degradación de las Sustancias Pécnicas	36
a. Degradación Oxidativa	38
b. Degradación térmica	39
9. Usos de la pectina	40
a. En la Industria Alimentaria	40
b. En la industria farmacéutica	43

III. MATERIALES Y METODOS	44
A. LUGAR DE EJECUCION	44
B. MATERIA PRIMA	44
C. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	44
1. Equipos	44
2. Materiales	45
3. Reactivos	46
D. METODOS DE ANALISIS	46
1. Caracterización de la madurez y macrocomponentes del fruto del cacao	46
a. Madurez	46
b. Macrocomponentes	47

2. Análisis físico-químico	47
a. Análisis físico-químico del exudado	47
b. Análisis físico-químico de la pectina	49
c. Análisis complementario	51
E. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	54
1. Caracterización del fruto del cacao y del exudado	54
a. Caracterización del fruto del cacao	54
b. Caracterización del exudado	55
2. Estudio preliminar para la obtención de pectina	55
a. Definición del flujograma preliminar para la obtención de pectina	56
b. Diseño experimental	61
3. Obtención y caracterización de la pectina	64
F. ANALISIS ESTADISTICO	64
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	67
A. CARACTERIZACION DEL FRUTO DEL CACAO Y DEL EXUDADO	67
1. Caracterización del fruto del cacao	67
a. Indices de madurez	67
b. Cosecha	70
c. Macrocomponentes	71
2. Caracterización del exudado	72
B. ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA OBTENCION DE PECTINA	75
1. Precipitación	75

a.	Precipitación con alcohol	75
b.	Precipitación con sulfato de aluminio	82
2.	Secado	91
C.	OBTENCION Y CARACTERIZACION DE LA PECTINA	93
1.	Definición del flujograma de obtención	93
2.	Rendimiento	97
3.	Caracterización de la pectina	97
a.	Caracterización Química	97
b.	Caracterización Física	102
c.	Análisis complementario	105
V.	CONCLUSIONES	113
VI.	RECOMENDACIONES	115
VII.	BIBLIOGRAFIA	116
A N E X O S		120
ANEXO 1		120
ANEXO 2		125
ANEXO 3		130

INDICE DE CUADROS

CUADRO 01:	Composición química de la pulpa de cacao . . .	06
CUADRO 02:	Relación entre el grado de esterificación y el contenido de metoxilo en pectina . . .	32
CUADRO 03:	Fuentes de pectina de bajo grado de metoxilos	37
CUADRO 04:	Diseño experimental para la obtención de pectina	63
CUADRO 05:	Tabla de datos muestrales del experimento DBCA de dos factores	66
CUADRO 06:	Variación de algunos índices de madurez evaluados en el exudado del cacao	68
CUADRO 07:	Macrocomponentes del fruto del cacao	70
CUADRO 08:	Composición Química del exudado de cacao . . .	74
CUADRO 09:	Rendimiento de Pectina en función de las concentraciones de alcohol y pH con 3 repeticiones	77
CUADRO 10:	Análisis de variancia del rendimiento de pectina obtenido en función a la concentración de alcohol de 95° y al pH	78
CUADRO 11:	Prueba de Tukey de los rendimientos promedios de la pectina obtenida a diferentes concentraciones de alcohol en función del pH	80
CUADRO 12:	Rendimiento de pectina obtenida en función de la concentración de sulfato de aluminio y el pH con 3 repeticiones	85
CUADRO 13:	Análisis de variancia del rendimiento de pectina obtenido con diferentes	

	concentraciones de sulfato de aluminio a diferentes niveles de pH	86
CUADRO 14:	Prueba de Tukey de los rendimientos promedios de pectina obtenida a diferentes concentraciones de sulfato de aluminio en función del pH	87
CUADRO 15:	Rendimiento en la obtención de pectina en los diferentes tratamientos	88
CUADRO 16:	Análisis de ceniza de la pectina obtenida con alcohol (70 %) y sulfato de aluminio (60 %)	90
CUADRO 17:	Características de la pectina obtenida por diversas formas de secado en función a la humedad y color	91
CUADRO 18:	Características químicas de la pectina obtenida del exudado de cacao	98
CUADRO 19:	Características físicas de la pectina obtenida del exudado de cacao	104
CUADRO 20:	Resultados de la prueba reológica de la solución de pectina comercial a 25°C (Viscosímetro Brockfield RV, Rb = 56.26 mm., Rc = 83.4 mm., h = 61.12 mm.)	106
CUADRO 21:	Resultados de la prueba reológica solución de pectina del exudado a 25 °C (Viscosímetro Brockfield RV, Rb = 56.26 mm., Rc	109
CUADRO 22:	Datos para determinar los parámetros reológicos de la pectina comercial	

(Viscosímetro Brookfield RV, Spindle 1) . . . 130

CUADRO 23: Datos para determinar los parámetros reológicos de la pectina del exudado de cacao (Viscosímetro Brookfield RV, Spindle 1) 130

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 01:	Esquema de un corte transversal de la mazorca de cacao	07
FIGURA 02:	Semilla de cacao, mostrando sus partes principales mediante un corte longitudinal y transversal	07
FIGURA 03:	Utilización integral del fruto del cacao	09
FIGURA 04:	Molécula del ácido "1_4_D galacturónico	16
FIGURA 05:	Acido poligalacturónico parcialmente esterificado con metanol	16
FIGURA 06:	Realación de la solubilidad con los coloides hidrofílicos de un sistema	24
FIGURA 07:	Flujograma para la obtención de pectina de alta metilación y baja metilación	26
FIGURA 08:	Flujo tentativo para la obtención de pectina a partir del exudado de cacao	60
FIGURA 09:	Variación del índice de madurez, °Brix y pH del fruto del cacao	69
FIGURA 10:	Variación de la pectina y acidez titulable (fruto del cacao)	69
FIGURA 11:	Flujograma definitivo para la obtención de pectina en polvo a partir del exudado de cacao	96
FIGURA 12:	Reograma de la solución de pectina comercial	106
FIGURA 13:	Reograma de la solución de pectina del exudado de cacao	111

I. INTRODUCCION

La pectina es un insumo ampliamente utilizado por la industria alimentaria y farmacéutica, gracias a sus cualidades como agente gelificante o estabilizante. La producción de pectina en el Perú es muy escasa, tanto que se tiene que importar para suplir la demanda industrial. Algunas empresas han logrado sustituir en parte sus importaciones extrayendo la pectina de sus propios desechos.

Se han realizado estudios para buscar fuentes alternativas de pectina, pero se encontraron con una serie de inconvenientes, como el costo elevado de la pectina obtenida, la estacionalidad de algunas fuentes de pectina, la baja producción de las fuentes alternativas que no satisfacen la demanda. Sin embargo existe un cultivo que en los últimos años tiene un gran aumento en su producción nos referimos al fruto de cacao (*Theobroma cacao* sp), que tiene la particularidad de cosecharse durante todo el año.

El aprovechamiento del cacao, mayormente se limita al de las almendras en la elaboración de pasta de cacao, manteca de cacao entre otros, sin embargo, en el beneficio del cacao se desecha las exudaciones o material mucilaginoso que envuelve a las semillas por tratarse éste, de un sub-producto rico en pectina que puede ser utilizada como una nueva fuente, ya que la gran producción de cacao proporciona una abundante disponibilidad de materia prima.

Estas consideraciones han motivado la realización del presente trabajo, en tal sentido para el desarrollo de la investigación se han planteado los siguientes objetivos:

- Determinar las características Bromatológicas, físicoquímicas y sensorial de la materia prima.
- Determinar el efecto de las sales de aluminio y alcohol etílico de 95 °G.L. en la precipitación de pectina.
- Definición de un flujograma óptimo para la obtención de pectina.
- Determinación de las características físicas, físicoquímicas y químicas del producto final.

II. REVISION DE LITERATURA

A. ORIGEN, CLASIFICACION Y CARACTERISTICAS BOTANICAS DEL CACAO (*Teobroma cacao* Sp)

El cacao es nativo del nuevo mundo, ésta especie se extiende por el norte desde el sur de México, y por el sur hasta Brasil y Bolivia. Se considera que su centro de origen está en la cuenca del alto Amazonas (WOOD, 1986).

NOSTI (1973) Botánicamente clasifica:

Reino	:	Vegetal
División	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotiledoneae
Orden	:	Columniferae
Familia	:	Esterculiácea
Tribu	:	Buttnereaceae
Género	:	<i>Teobroma</i>
Especie	:	<i>Teobroma cacao</i> sp

El fruto de cacao es una drupa, a la que comúnmente se le llama mazorca, su tamaño y forma varía considerablemente desde elipsoides a esféricas. Tiene cinco prominencias longitudinales, y en la mayoría presenta 10 surcos regulares y sus colores básicos son: amarillo claro o rojo oscuro. Algunas mazorcas tienen hasta 32 cm de largo, mientras que otras solo llegan hasta 10 cm de largo. El grano de cacao es una semilla sin albumen recubierta por una pulpa

mucilaginoso de color blanco y de sabor acidulado. Las semillas o almendras pueden encontrarse de 10 a 15 por fruto, su forma, tamaño y número es característica varietal, su longitud varía entre 2 a 4 cm.

B. VARIEDADES CULTIVADAS .

Según HERNANDES (1986), la distribución de los diferentes tipos de cacao constituye un problema, al no existir desde el punto de vista botánico ninguna variedad descrita como tal, debido a que la planta es considerada halógena (se cruzan entre sí por los insectos) lo que contribuye a una alta diversidad de tipos existentes. Sin embargo, tomando como base la evolución histórica de los nombres tradicionales, distribución geográfica y su origen se ha establecido la siguiente clasificación de variedades.

Cacao Tipo Criollo

Son los que tienen semillas grandes (3 a 4 cm de longitud), casi ovalada de color blanco o violeta claro, de las cuales 5 son más profundas que las otras.

Cacao Tipo Forastero

La mayor parte de cacao comercial es el conocido como "forastero", caracterizado por tener las semillas moradas, generalmente lisos son de buen rendimiento y resistentes a las enfermedades fungosas.

Cacao tipo Trinitario o Híbrido

Como indicamos, los diferentes tipos de cacao se cruzan perfectamente al natural, originando variaciones en cuanto a forma, color, tamaño de los frutos y semillas, así como al tipo de árbol. Los "Híbridos" producidos por estos cruzamientos, reciben el nombre de Trinitarios; aunque la mazorca o frutos son de diferentes tamaños y color, los mejores "Híbridos", producen frutos alargados y casi siempre presentan un ligero estrangulamiento próximo a la base.

Es importante indicar que entre estos "Híbridos", o "Trinitarios" muy buenos, están aquellos que tienen la base angosta y superficie rugosa.

C. COMPOSICION DE LA PULPA DE CACAO

La pulpa de cacao es carnosa y contiene en su interior un variable número de granos que se encuentran cubiertos por un mucílago dulce-ácido. Según **ROMEAU (1981)**, esta pulpa ácida-azucarada está constituida por células mucilaginosas largas y de paredes delgadas.

El cuadro 1 muestra la composición química de la pulpa de cacao, donde se reporta un contenido de pectina de 2.5 % lo que permite la utilización del exudado de cacao en la obtención de pectina.

CUADRO 1: Composición química de la pulpa de cacao

Componente	%
Humedad	82.6
Sólidos totales	16.43
Azúcares reductores:(fructuosa y glucosa)	9.66
Acidez (en ácido cítrico)	0.90
Fibrás	0.73
Nitrógeno total	0.12
Aminoácidos	0.0027
Pectina	2.50
Minerales	0.30
Vitamina C (mg/100)	10.00
°Brix	16.00
pH	3.70

Fuente: CEPLAC (1984).

En las figuras 1 y 2, se observan la semilla de cacao mostrando sus partes principales mediante un corte

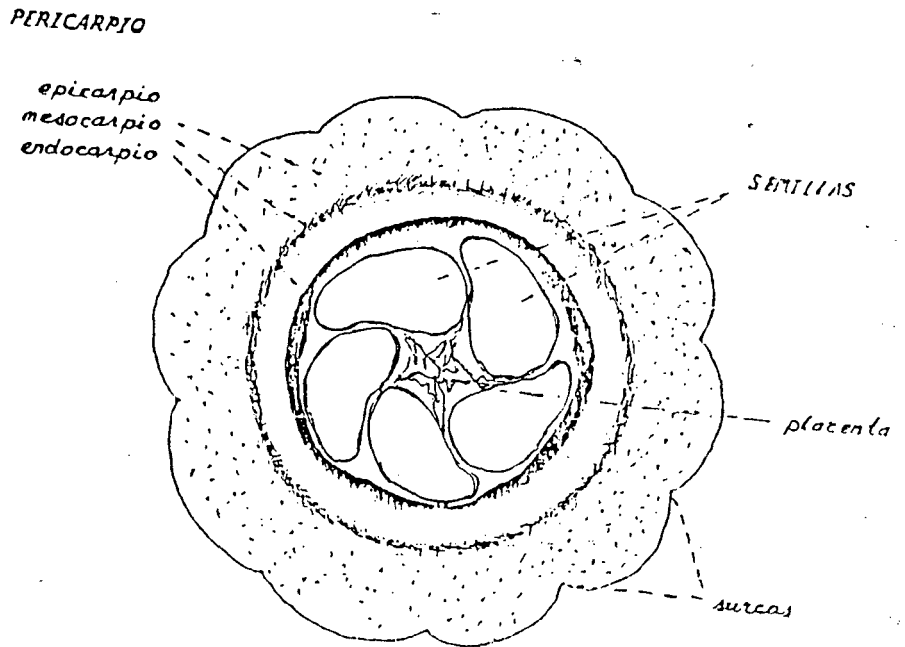


Figura 1: Esquema de un corte transversal de la mazorca de cacao.

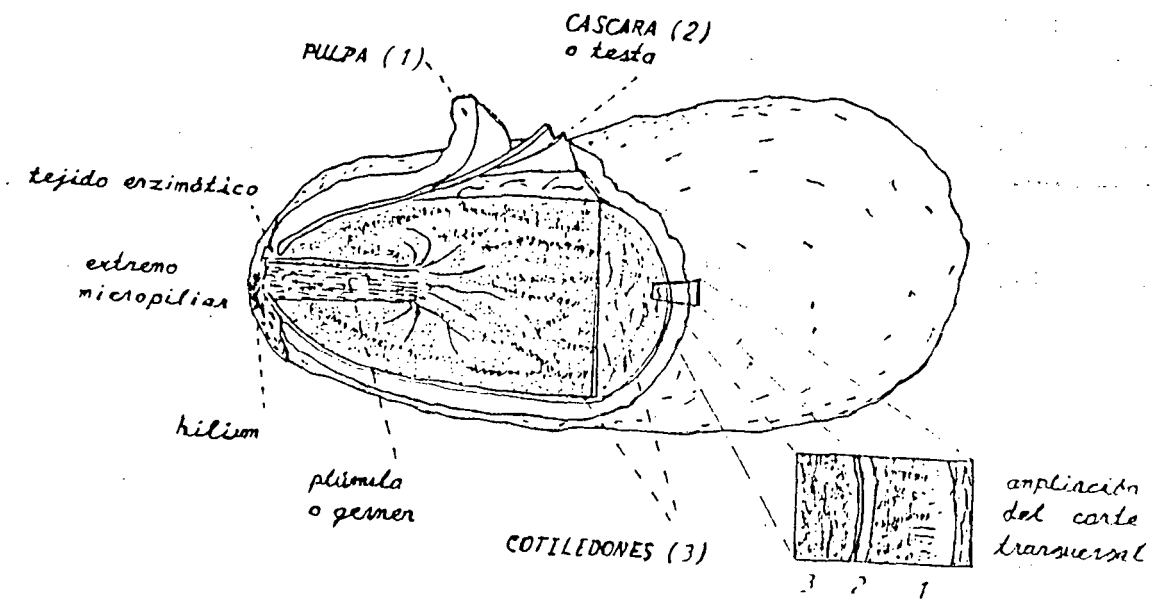


Figura 2: Semilla de cacao, mostrando sus partes principales mediante un corte longitudinal y transversal.

longitudinal y transversal, del cual la pulpa esta formada por fibras ramificadas y por paquetes de fibrillas helicoidales adheridas a la testa que contiene a los jugos azucarados, los que a su vez están constituidos por protopectina, pectina, pectosa, pectinasa, pectinoesterasa y protopectinasa. Estos compuestos son semi-solubles en agua y son de naturaleza gelificante (LOPEZ, 1979; MONTES, 1981).

D. DERIVADOS DEL FRUTO DE CACAO

Según PAEZ (1970), en la actualidad el cacao no se encuentra íntegramente industrializado, ya que en el ámbito industrial se aprovecha solamente los granos por sus grandes cualidades de sabor, aroma rica en alcaloides y materia grasa, siendo todas estas utilizadas en la industria para la elaboración de pastas o polvos para chocolate, mantequilla de cacao, té de cacao.

El material mucilaginoso que se derrama del grano de cacao fresco en forma de líquido, se le conoce como exudaciones. Si se dispone de una cantidad suficiente puede emplearse como materia prima ya sea para fabricar bebidas fermentadas, jaleas, gelatina, etc. En la figura 3, se muestra la utilización integral del fruto de cacao (CEPLAC, 1984).

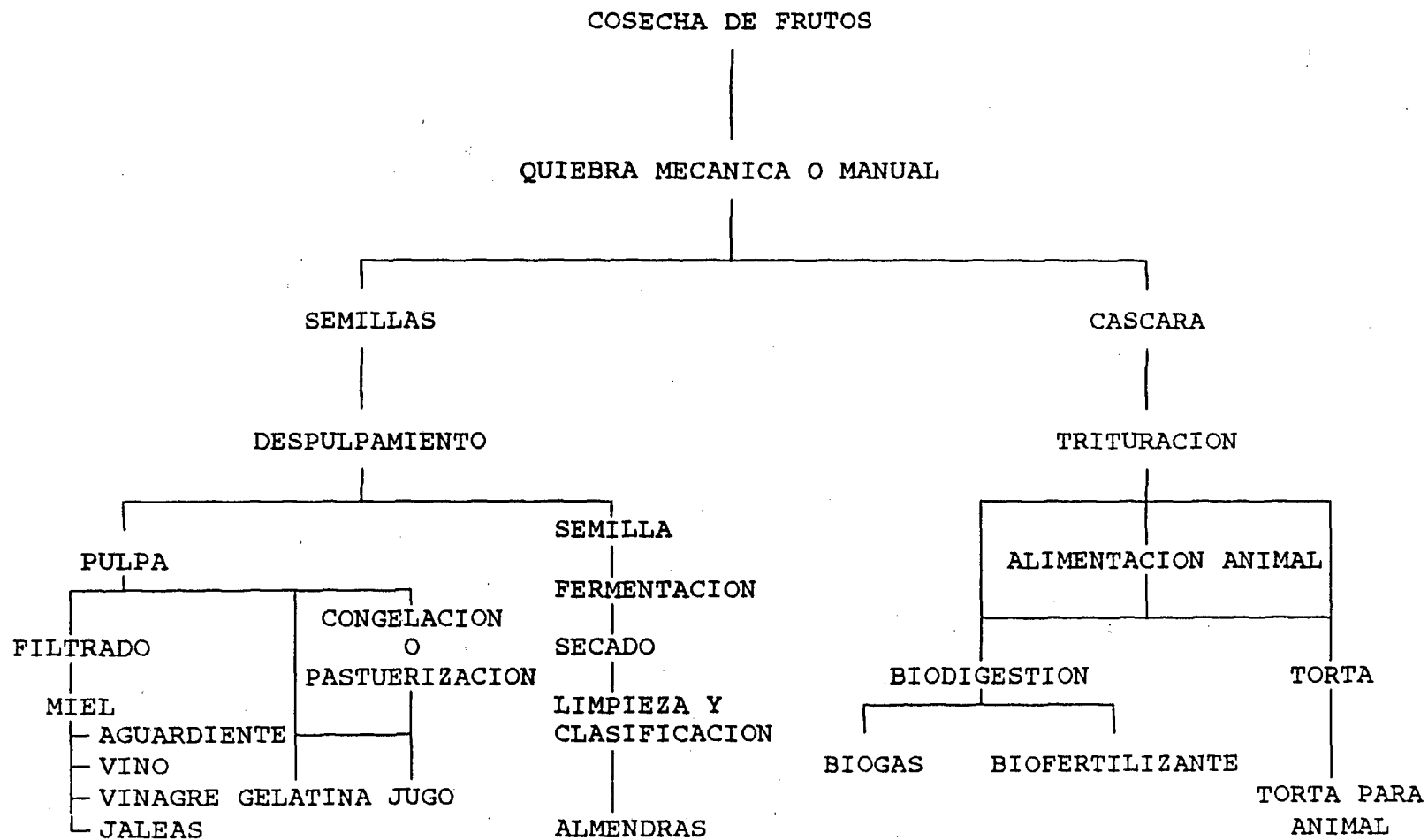


FIGURA 3 UTILIZACION INTEGRAL DEL FRUTO DE CACAO
 FUENTE: CEPLAC (1984).

E. SUSTANCIAS PECTICAS

1. Generalidades

Las sustancias pécticas son un grupo de polisacáridos heterogéneos de naturaleza hidrocoida. Estas sustancias son un componente necesario en la fotosíntesis de las plantas y son importantes por dos grandes razones:

- a. La influencia in situ, sobre la textura y consistencia de muchas frutas y verduras.
- b. El amplio uso en la industria alimentaria de las pectinas extraídas comercialmente como agentes gelificantes o espesantes (ISIQUE, 1986).

La protopectina es la generadora de las sustancias pécticas, es una sustancia insoluble en agua, encontrándose abundante en las capas intracelulares y en la pared de las células primarias con la celulosa y la hemicelulosa (DOESBURG, 1965).

2. Localización y funciones de las sustancias pécticas

Las sustancias pécticas se encuentran sin excepción en todas las plantas superiores, en las regiones intercelulares y en las paredes celulares. Estas membranas se componen de celulosa, hemicelulosa y

pectina, encontrándose estas últimas en la lámina media, sirviendo de material de sedimentación entre las células. El porcentaje total de pectina en el albedo (parte de la cáscara) y pulpa permanece constante a través de todo el crecimiento (ROUSE, 1978). En la mayoría de los tejidos vegetales y en los frutos inmaduros gran cantidad de material está presente en forma insoluble en el agua bajo la forma de protopectina. Transformándose en su forma más soluble con la madurez. Esta variación de solubilidad influye en los cambios de textura anexados a la madurez (CLICKSMAN, 1965), citados por GARCIA (1978). Existen grandes variaciones en el contenido de pectina presentes en las diferentes plantas y también en las diferentes partes de ésta, además la estructura química de las sustancias pécticas varía según recurso vegetal y su estado de crecimiento (ISIQUE, 1986).

3. Definición de sustancias pécticas

Debido a la existencia de muchas definiciones a cerca de lo que son estas sustancias con propiedades gelificantes (ya que cada fabricante los definía de acuerdo a sus condiciones y necesidades), se vio la imperiosa necesidad de uniformizar la definición; así la Sociedad Americana de Química en abril de 1949, definía las sustancias pécticas como:

"Las sustancias pécticas son un grupo designado para aquellos complejos coloidales derivados de carbohidratos los cuales se encuentran presentes en los frutos y en las plantas constituidas por una gran porción de unidades de ácido anhidrogalacturónico, el cual puede existir en cadenas combinadas. Los grupos carboxilos de ácido poligalacturónico pueden estar en parte esterificados con grupos metilos o completamente neutralizado por una o más bases" (DOESBURG, 1965)

4. Nomenclatura

La química de las sustancias pécticas ha estado plagada de un exceso de términos. La junta de nomenclatura de la sociedad Química Americana de las sustancias pécticas enumera más de 30 términos de la literatura. La primera junta no reconoció sino tres sustancias pécticas: protopectina, pectina y ácido péctico.

La segunda junta agregó a los términos precedentes: Acido pectínico. Para nuestro conocimiento en la actualidad las adoptadas por la **AMERICANA CHEMICAL SOCIETY** (1949).

a. Sustancias pécticas

Denominación del grupo de sustancias con

características gelatinizantes y que son carbohidratos que forman coloides, contienen gran porcentaje de ácido galacturónico que están en combinación con cadenas semejantes. Los grupos carboxil de estos son parcialmente esterificados por grupos metílicos y parcial o totalmente neutralizado por una o más bases.

b. Protopectina

Llamado por otros pectosa, como su nombre lo indica es la sustancia madre del grupo, tiene un peso molecular mayor que la de los ácidos pécticos y pectínicos. Son insolubles en el agua y fácilmente soluble en soluciones ácidas. La mayor parte de la protopectina se encuentran en las capas intracelulares y en las células primarias lo que da una idea de la conducta de las sustancias pécticas "in situ" que tiene una importante influencia sobre la conexión de las células, por esta razón, la relación existente entre las sustancias pécticas, la rigidez y firmeza de la planta y productos vegetales han sido ampliamente estudiados (GORTNER, 1976).

Esta es la forma precursora de la pectina. La insolubilidad de la protopectina es posible que se deba a la estructura consistente en cadenas de alto

peso molecular que puede estar asociados unas con otras y con otras paredes de celdas de polisacáridos (FRANCIS, 1975). KIRK OTHMER (1962), afirma que la protopectina se desdobla en ácidos pectínicos hidrosolubles por diversos procedimientos como tratamiento con ácidos, calentamiento con agua, intercambio de iones, etc.

c. Pectinatos

Son las sales neutras o ácidos de grupos metílicos.

d. Ácidos pectínicos

Son pectinas parcialmente desesterificados. Se originan de los ácidos poligalacturónicos puros por esterificación de algunos grupos carboxilos libres de metanol (cantidad despreciable). La solubilidad de los ácidos pectínicos aumenta en agua con la mayor metilación pero es inversamente proporcional al tamaño molecular. Forma sistemas coloidales.

e. Pectinas

Se llama así a los ácidos pectínicos y pectinatos capaces de formar geles con azúcar y ácido.

F. PECTINAS

1. Definición

Químicamente, Schneider y colaboradores citados por BRAVERMAN (1980), definen a la pectina como una larga cadena de ácido poligalacturónico con grupos carboxilos parcialmente esterificados por alcohol metílico. En una forma más amplia podría definirse a la pectina como polisacáridos que se encuentran en las paredes celulares y espacios intercelulares de los tejidos vegetales, solubles en agua, extraíbles de los vegetales generalmente por acción del calor.

2. Estructura

En la figura 4, se muestra que la base de su estructura química la constituye el ácido D-galacturónico. En la figura 5, se puede apreciar que los grupos carboxilos están esterificados por radicales metilos en diferentes proporciones, lo que le da un grado de metilación del cual depende su capacidad de formar geles en condiciones normales con azúcar y ácido. La longitud de la cadena también es variable y puede incluir desde algunas unidades hasta varios centenares de ácidos galacturónico, esto representa un peso molecular que va desde 1000 a 100000 unidades. La cadena principal posee

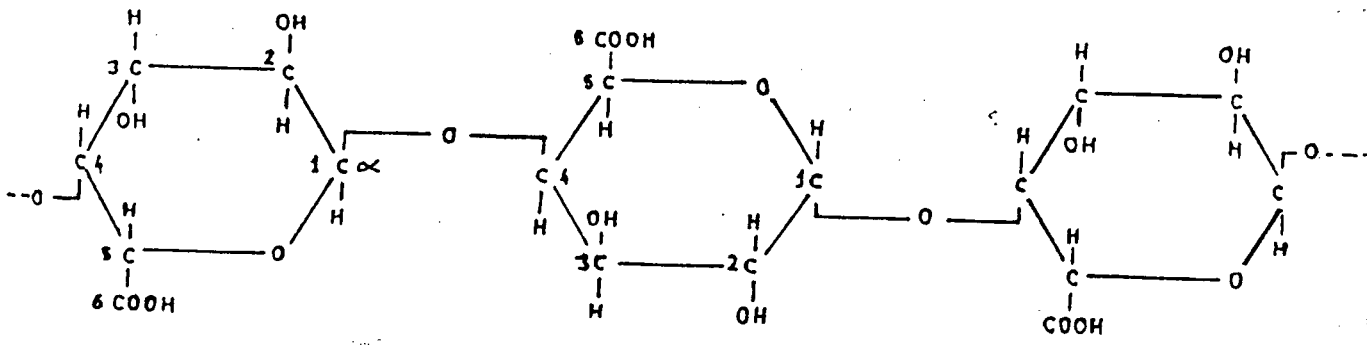


Figura 04. Molécula del ácido α -1-4-D Galacturónico.

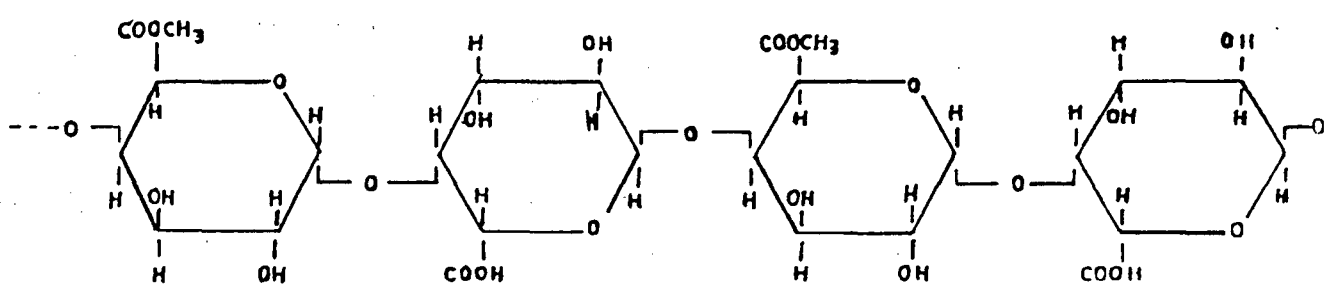


Figura 05. Unidad del ácido poligalacturónico.

sin embargo segmentos que contienen restos de L_ramnosa. En pequeñas cantidades se encuentra también presentes D_galactanos y L_arabinanos unidos por enlace covalente al galacturano.

3. Localización

La pectina se encuentra en las plantas especialmente bajo cuatro formas distintas, según su solubilidad y composición (KIRK-OTHMER, 1962).

a. Pectina disuelta en los jugos vegetales

Está acumulada en los jugos de las bayas con gran tendencia a formar geles, consta de distintos productos de desintegración procedente de la pectina original por la acción de fermentos. Puede precipitar en forma de jalea por medio de alcohol.

b. Pectina fácilmente soluble en agua

Se obtiene de la pulpa de los frutos que han sido privados del jugo o de otras partes de la planta prensado o hervida con alcohol, por una corta ebullición en agua o por un calentamiento de mayor duración en agua a 80-90 °C y precipitados de estos extractos por medio de alcohol. Su composición es

variable, parcialmente descompuesta por fermentos y con gran tendencia a la formación de geles. Una vez aislada es reversiblemente soluble en agua fría.

c. Pectina genuina estable en las laminillas centrales

Se encuentra bajo una forma completamente insoluble en agua fría. Sustancia fundamental que constituye el esqueleto de los frutos carnosos y de las raíces, así como de las partes verdes de las hojas y tallos. Consiste probablemente de moléculas de carbón con sales de ácido pectínico. Se disuelve lentamente por ebullición con agua durante largo tiempo y rápidamente bajo presión, en este caso resulta por desdoblamiento hidrolítico una fórmula química modificada, la hidropectina. Una vez conseguido el extracto se puede precipitar en su mayor parte con alcohol.

4. Características

a. Características Químicas

La pectina es fácilmente precipitada de sus soluciones con alcohol o con acetona en forma de grumos que quedan en suspensión los cuales, a su vez son solubles en agua. Esta coagulación tiene lugar en

medios ácidos y puede ser ayudado por sales como: El sulfato magnésico, acetato básico de plomo, sulfato de aluminio, etc. Estas partículas llevan una carga eléctrica con signo opuesto al de las pectinas, que es un coloide cargado negativamente. La pectina en solución hace girar el plano de la luz polarizada hacia la derecha. El peso molecular de la pectina no es fácil de determinar, probablemente es muy elevado; se dice que el peso molecular de pectinas que proceden de naranjas es bastante más alto (10,000 a 100,000), que el de las que se obtiene de otros frutos. La característica química más importante es su contenido de grupos carboxilos que le imparten propiedades muy diferentes a los otros carbohidratos que no tiene grupos ionizables (BADUI, 1993).

Entre el ácido péctico, protopectina y la pectina, el más simple de los tres es el ácido péctico. Este compuesto parece ser una larga cadena recta, sin ramificaciones, formada por la condensación de un gran número de unidades de moléculas de ácido galacturónico (cerca de 100). Este ácido es un derivado de azúcares, cuyos restos (5-200), están unidos por enlaces glucosídicos al ácido α 1-4 poligalacturónico que es el responsable de las propiedades coloidales. La pectina se diferencia del

ácido péctico; por que muchos de los grupos carboxílicos (-COOH), del ácido péctico han sido esterificados con grupos metil(CH₃); presentando en su cadena una mayor proporción de ácido galacturónico (FORTES, 1972). Las pectinas se pueden hidrolizar por acción de ácidos por medio de álcali o por acción de enzimas. El calor por si solo puede causar la degradación de las pectinas. Cuando los grupos carboxil en los ácidos poligalacturónicos puros están todos esterificados el contenido de metóxilos es de 16.32 % y el grado de esterificación será de 100 % (cuadro 2). El máximo límite de contenido de metoxilo en los ácidos pécticos extraídos de las fuentes naturales es rara vez más alto que 13.5 % . El peso molecular es también dependiente del grado de esterificación de las sustancias pécticas (DOESBURG, 1965).

b. Características Físicas

La solubilidad, viscosidad y habilidad de formación de gel de una pectina dependen de las características de las mismas (NELSON, 1977). Los polisacaridos y otros polímeros solubles en agua se coagulan por adición de sustancias inorgánicas y compuestos orgánicos (DOESBURG, 1965).

1. Solubilidad

Esta característica se encuentra relacionado con la capacidad de hinchamiento de los coloides hidrofílicos. En muchos casos la dilatación puede seguir a la solubilización, para que una pectina muestre su poder gelificante, debe estar completamente disuelta. La capacidad de solubilidad y de poder gelificante puede ser limitada por el tamaño de gránulos de pectina, la dispersión y solubilidad son iniciadas cuando el valor requerido de pectina es mezclado completamente con 5 a 8 veces su peso con azúcar granulada.

Diferentes autores han demostrado que las pectinas se disuelven mejor en soluciones que contienen no más del 25 % de sólidos solubles. Para lograr una completa solubilidad de las pectinas en las jaleas o mermeladas, es conveniente que la parte principal del azúcar sea agregada después de la pectina la cual será disuelta durante la ebullición.

2. Viscosidad

La viscosidad de la pectina depende de las

características químicas de la misma, grado de esterificación, peso molecular (NELSON, 1977). La determinación de la viscosidad de soluciones pécticas se usa a menudo, para calcular su peso molecular; los pesos moleculares por este método varían entre 50,000 a 300,000 (DOESBURG, 1965). Una sustancia péctica en solución es susceptible de degradaciones irreversibles como la pérdida de viscosidad y disminución del poder gelificante. Estas aumentan cuando se elevan la temperatura de almacenamiento.

3. Coagulación

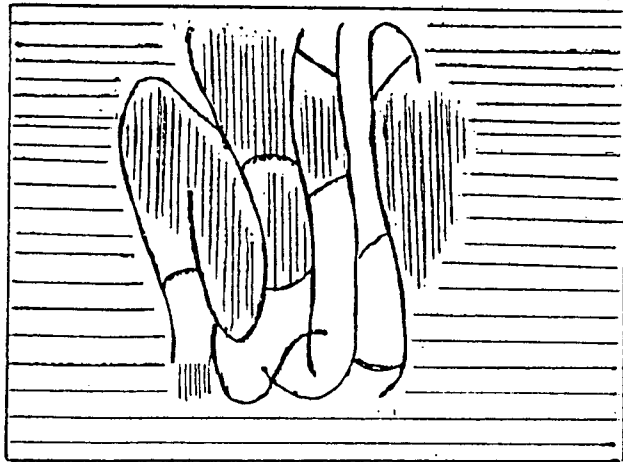
La coagulación de sustancias en soluciones acuosas por adición de etanol o acetona, es ampliamente usado y conocida por los productores de pectina. En la coagulación de las pectina por adición de acetona, se forman más coágulos filamentosos, los que son más fáciles en su manipulación, que cuando se usa el alcohol para coagularla. Sin embargo al comparar dichas pectinas se encuentra una mayor cantidad de impurezas en las pectinas precipitados con acetona que las coaguladas por etanol (KRAMER, 1965).


4. Hidratación

Existe una relación de la solubilidad con los coloides hidrofílicos y su habilidad por hidratarse, en muchos casos la hidratación puede seguir a la solubilización como se muestra en la figura 6. La hidratación de las sustancias pécticas aumenta con el incremento del peso molecular y del grado de esterificación, en investigaciones realizadas por Hoogzand, se comprobó que el poder hidratante de estas sustancias es notoriamente disminuida con el grado de esterificación y de polimerización. La sustancia pécticas elevan su poder de hidratación al elevarse el pH (DOESBURG, 1965).

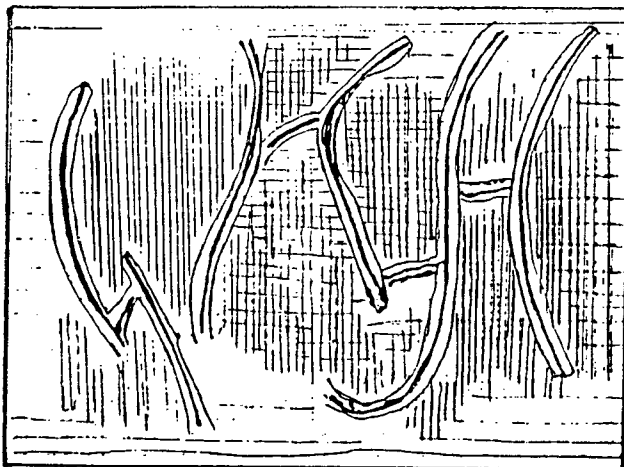
5. Métodos de extracción de pectina


Actualmente existe muchos métodos de extracción de pectina y cada una de ellos pretende ser más eficaz que otro. Sin embargo, siempre existen diferencias debido a la calidad y condiciones de la materia prima, el método en sí de extracción de pectina y la forma de secar y almacenar el producto, los principales pasos a seguir en la obtención de pectina son de acuerdo a A/S Kobenhauns Pektinfabrik (1996?):



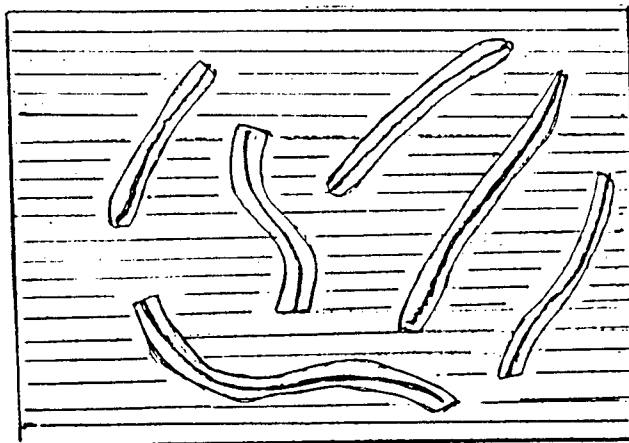

 Agua libre
 Móvil

GEL (Sin hidratación)




 Agua libre
 Inmovilizada

GEL (Hidratado parcialmente)




 Agua de
 hidratación

Solución totalmente hidratada
Figura 6: Relación de la solubilidad con los coloides hidrofílicos de un sistema.
 Fuente: DOESBURG, 1965.

1. Extracción a partir del material vegetal.
2. Purificación del líquido extraído.
3. Separación de la pectina a partir de la solución.
4. Desesterificación de la pectina de alto contenido de ester o metóxilo (HM), cuando se desea obtener pectina de bajo grado de metilación (LM) según la figura 7.

A continuación se hace una breve descripción de algunos métodos.

a. Por precipitación con solventes orgánicos

Este método es el más usado en la actualidad por la posible recuperación del solvente para ser rehusado. Los solventes usados para precipitar la pectina son el alcohol etílico y la acetona entre otros.

1. Precipitación con alcohol etílico

La materia prima acondicionada es hervida en ácido diluido bajo condiciones favorables de pH, temperatura y tiempo. El extracto acuoso es enfriado y clarificado. El extracto clarificado es concentrado en evaporadores de múltiples efecto de acero inoxidable hasta la concentración deseada. El concentrado es recogido del evaporador y

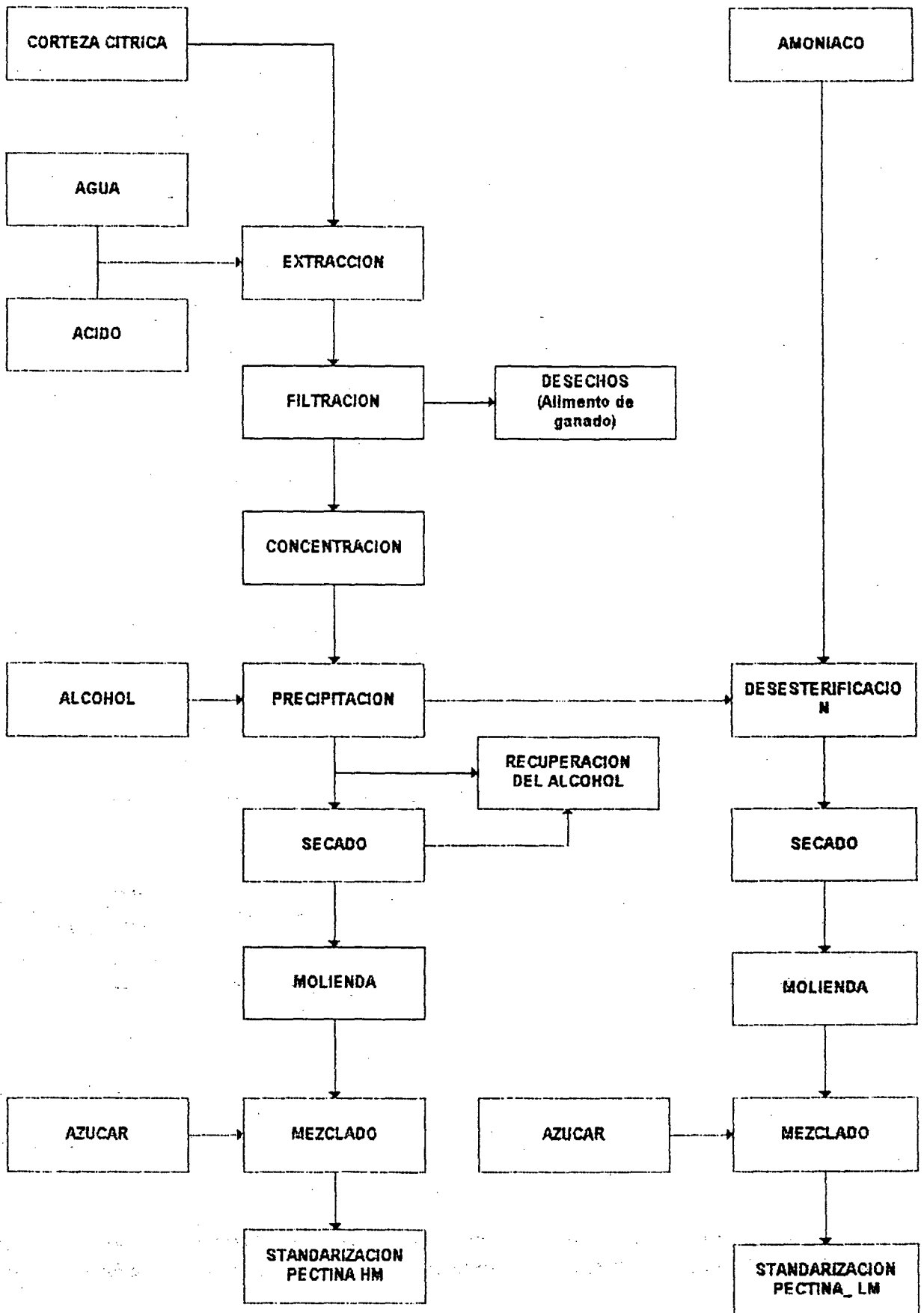


Figura 7. Flujograma para la obtención de pectina HM y LM

precipitado en alcohol acidulado, el precipitado es separado, escurrido y eximido o centrifugado para extraer el exceso de alcohol. La pectina extraída es nuevamente suspendida en alcohol, exprimida y secada (GOPINANTHAN, 1975).

La pectina extraída por este método es de muy buenas características; debido a que éste método a sido generalizado por todos los productores de pectina, los cuales han alcanzado notables conocimientos en manejo de solventes para el proceso de la precipitación (GARCIA, 1978). No obstante este método representa una enorme inversión por el consuno de grandes cantidades de alcohol y costos de operación en general (GOPINATHAN, 1975).

2. Precipitación con acetona

Este método es similar a lo que ocurre con el alcohol, con la diferencia que con éste método se forma una floculación fibrilar más manipulable; aunque en este método hay una mayor precipitación de impurezas. El motivo por el cual no se utiliza éste método es debido a los elevados costos de la acetona, además de utilizar cloruro de sodio para la precipitación (GARCIA, 1978).

b. Precipitación con sales metálicas

Las sales metálicas que se emplean para la precipitación de la pectina son el cloruro de aluminio y el sulfato de aluminio principalmente. La precipitación por ésta sal, se realiza por adición a la solución péctica limpia, llevada a pH 4.0 - 4.2, con amoníaco o NaOH y agitada vigorosamente (para evitar alcalinizaciones localizadas y la desmetilación que resultaría, de una solución al 25% de cloruro de aluminio); la cantidad a añadir para obtener una precipitación completa se determina experimentalmente. El hidróxido de aluminio que se forma precipita al mismo tiempo que la pectina bajo la forma de pectato ácido aluminico. Esta "cuajada verde" se separa por filtración y luego se lava con alcohol acidificado con un 10% de ácido clorhídrico, que tiene por objeto transformar el hidróxido de aluminio en cloruro, que es soluble en alcohol. Se prosigue el lavado con alcohol neutro, cuyas últimas trazas se eliminan, después de la filtración, con aire caliente.

A continuación la pectina es secada, pulverizada y empacada hasta su posterior uso. En cuanto a su calidad es muy buena, cuestionada por el alto porcentaje de ceniza, lo que puede significar una

necesidad de purificar la pectina (CHEFTEL, 1976).

6. Caracterización de las pectinas

Existen diferentes métodos para la caracterización de la pectina.

a. Métodos químicos

1. Métodos colorimétricos

Se basa en la frecuencia del color con la adición m-hidrodifenil, calentando la solución en ácido sulfúrico y ácido bórico, determina el ácido galacturónico en pectinas dentro de los alimentos (FISHMAAN, 1996).

b. Métodos Físicos

1. Métodos espectroscópicos

Han sido aplicado para el análisis estructural de polisacaridos, entre ellos tenemos:

- Infrarrojo (IR); usado, para estimar las constantes ácidas de disociación como una función del pH.

- Resonancia magnética nuclear (NMR); usado para determinar la proporción relativa de los grupos carboxil libres y esterificados en pectinas (FISHMAN, 1996).

c. Métodos Cromatográficos

- Cromatografía gas líquido; analiza el ácido galacturónico libre y esterificado.
- Cromatografía de alta presión; utiliza una columna de intercambio iónico para la determinación del ac. galacturónico (FISHMAN, 1996).

d. Determinación de grupos metil-Acetil en pectinas

Metil-ester en pectinas; por titulación con hidróxido de sodio antes y después de la saponificación.

e. Acetil ester en pectinas

El uso de la hidroxilamina produce una coloración roja, el complejo péctico es insoluble y puede ser separada por filtración, se lee a 520 nm la intensidad de la fracción soluble, el cual consiste de un complejo férrico con el ácido acetohidroxámico, constituyendo una medición del contenido de acetil (FISHMAN, 1996).

7. Propiedades de las Pectinas

Según CHEFTEL (1976), la propiedad más importante de la pectina es su aptitud para formar geles, ésta va a depender del porcentaje de metilación dentro de la estructura de la pectina y de la longitud de la molécula péctica. Como parte de la estructura de una pectina se encuentra los grupos carboxilos, los cuales son esterificados por radicales metilos, a esto se le conoce como metilación de una pectina. En la actualidad existen discrepancias sobre cuan importantes es su proporción dentro de la estructura de las pectinas es así como para KIRK-OTHMER (1962), más allá de la necesidad de que exista por lo menos 7 % de metoxilos en la pectina, no existe relación alguna entre el contenido de metoxilo y el poder gelificante. Myers y Bker 1934 citado por MONTES (1981), afirma que el poder gelificante depende del grado de polimerización del ácido galacturónico y no del contenido de metóxilo. Aun cuando no hay un acuerdo unánime sobre la importancia del contenido de metoxilo, se han determinado condiciones específicas para la formación de geles, de acuerdo al grado de metilación de las pectinas. En el cuadro 2, se presenta la relación entre el porcentaje de metoxilo y el grado de esterificación (DOESBURG, 1965).

CUADRO 2: Relación entre el grado de esterificación y el contenido de metoxilo en pectina.

Grado de esterificación	Contenido de Metoxilo
%	%
0	0.00
10	1.63
20	3.26
30	4.90
40	6.53
50	8.16
60	9.79
70	11.42
80	13.06
90	14.69
100	16.32

Fuente: DOESBURG (1965).

Según el grado de metilación podemos agrupar de la siguiente manera:

a. Pectina con alto grado de metilación

La proporción de metilación se expresa por el contenido de metoxilo (-OCH₃) resultante de la determinación analítica. La metilación total corresponde a un contenido en OCH₃ del 16 %, mientras que en general que las pectinas que se extraen de diversos vegetales presentan contenidos en metoxilos comprendidos entre 10 a 12 % . Las pectinas de alta metilación forman geles con contenidos de azúcar por encima del 50 %. Estas pectinas tienen un contenido de metoxilo mayor al 7% , el grado de hidratación se reduce mediante la adición de azúcar y la disminución de carga eléctrica se consigue por un aporte de iones H, dicho de otra manera, el enlace de una molécula péctica queda asegurada a otras, básicamente, por uniones de hidrógeno entre grupos hidroxilos, éstos son enlaces débiles y los geles pécticos de este tipo se caracterizan por tener gran plasticidad lo que induce a pensar que se debe a la movilidad de unas moléculas con relación a otras (CHEFTEL, 1976).

Para que la pectina de alto grado de metoxilo pueda formar un gel es necesaria que se cumpla las

siguientes condiciones:

- Que el azúcar, ácido y pectina estén en cantidades óptimas. Se ha determinado que el azúcar se sitúa al rededor de 67.5 %, el pH entre 3- 3.5 y la pectina según su calidad.
- Que la repulsión electrostática entre moléculas de pectina disminuya, por efecto de una reducción en la disociación de los grupos carboxilo.
- En ausencia de cationes polivalentes muestran viscosidad máxima a pH 7.5.
- Que sea de rápido asentamiento, permitiendo su uso en la elaboración de conservas que contengan frutos enteros o en trozos en suspensión (DOESBURG, 1965).

b. Pectinas de bajo grado de metilación

Las pectinas que poseen un bajo contenido de metoxilo pueden ser usados para la formación de geles con bajo o alto contenido de sólidos solubles. Para la formación de estos geles es necesario la presencia de iones de calcio. Este tipo de pectina se encuentra fuertemente influenciadas por las temperatura, para que se produzca la gelificación es necesario que se encuentren en el rango de 35 a 65 °C durante la cocción, DOESBURG (1965). El contenido de metoxilo

fluctúa entre (2.5 -4.5%).

Este tipo de pectinas, baja en grados de metoxilos, puede ser obtenidos a partir de aquellas cuyo grado de metilación es alto, así como por:

- Acción enzimática: en donde la pectasa o conocida como pectinaesterasa actúa desmetilando y su acción es favorecida por cationes. A este tipo de metilación no se le ha dado mucha importancia por que el producto que se obtiene no es de la calidad como de las que se obtienen tratándose en medios químicos.
- Tratando con ácidos las pectinas obtenidas a una temperatura menor de 60 °C, pH bajo y por largo tiempo. En este procedimiento se mezcla la materia prima con ácido clorhídrico concentrado logrando un pH cercano a 0.7 en cantidad justa para humedecer los tejidos. Una vez logrado el grado de desesterificación deseado se eleva el pH y se extrae la pectina (KIRK-OTHMER, 1962).
- Empleando medios alcalinos, bajo estrictas condiciones de control, los alcoholes la retardan y los electrolitos las elevan. Los iones de calcio y de magnesio activan esta desesterificación

realizado a una temperatura más baja de 20 °C, es más rápida que la desmetilación ácida.

Las características más importante de este tipo de pectinas es que forman geles en presencia de calcio y otros cationes polivalentes, se supone que la causa real de su capacidad de formación de geles es la configuración específica obtenida por los grupos carboxilo en una pectina normalmente esterificada (BRAVERMAN, 1980). Siempre que la longitud de la molécula sea suficiente se puede obtener la gelificación con cantidades de calcio inferiores al 0.1% a un en ausencia total de azúcar y ácido (CHEFTEL, 1976). Los geles de estas pectinas son elásticas. Su rigidez disminuye con el aumento de temperatura, la viscosidad aumenta al bajar el pH precipitando como coágulos. Se usa para gelificar leche jalea de frutas sin azúcar o en jaleas a base de carne, espesante , budines, jarabes, etc. En el cuadro 3, se muestra algunas fuentes de pectina de bajo grado de metoxilos.

CUADRO 3: Fuentes de pectina de bajo grado de metoxilos

Nombre común	Nombre científico	Localización	Metoxilos (%)
Pan de árbol	<i>Artocarpus</i>		
	<i>communis</i>		1.33
Coco	<i>Cocos nucifera</i>	Fruto	
		Pecíolo	1.03
Ñame	<i>Discorea alata</i>	Grano	0.93
Yuca	<i>Manihot</i>	Tubérculo	0.53
	<i>utilisima</i>		
Plátano	<i>Musa sapientum</i>	Cáscara	2.08
		Pulpa	1.55
Palta	<i>Persea americana</i>	Hoja	1.40
Guava	<i>Psidium guajava</i>	Fruta	4.08
Caña azúcar	<i>Saccharum</i>	Bagazo	
	<i>officinarum</i>		
Tamarindo	<i>Tamarindus</i>		
	<i>incisa</i>	Fruto	Trazas
Maíz	<i>Zea mays</i>		Trazas

Fuente: Veliz (1984).

8. Degradación de las Sustancias Pécnicas

a. Degradación Oxidativa

La degradación oxidativa se da en presencia de agentes tales como el hidrógeno, peróxido, etc. de acuerdo a POLLMAN (1947) citado por DOESBURG (1965), el cloro y el yodo no realizan estas reacciones.

En presencia del ácido ascórbico, presente en casi todas las fuentes que contiene pectina las sustancias pécticas solo, se, degradan en presencia de un aceptador o algún captador de hidrógeno, siendo esta reacción sumamente lenta cuando la solución se encuentra a un pH menor o igual a 2, pero el incremento es rápido cuando la solución se encuentra a pH por encima de este valor.

Esta reacción puede ser prevenida con la adición de ácido sulfúrico, ácido sulfuroso, etc. presumiblemente por la oxidación total e inmediata del ácido ascórbico. Una ligera reacción degradativa causa una severa disminución en la viscosidad y el poder gelificante de las pectinas, es decir causa una disminución general de las cualidades de estas sustancias (DOESBURG, 1965).

b. Degradación térmica

Las sustancias pécticas sólidas, con menor de 10 % de humedad permanece casi inalterable durante mucho tiempo, guardadas a temperatura ambiente (18 a 22 °C). Sin embargo cuando la pectina se encuentran en solución, es más fácil que se produzca estas degradaciones que son irreversibles causando pérdidas en la viscosidad, en la calidad o poder de gelificar conforme se va realizando esta degradación. Estas degradaciones aumentan su velocidad, cuando la temperatura de almacenamiento se ve incrementada (DOESBURG, 1965).

La pérdida de la viscosidad y del poder gelificante por acción de la temperatura es un efecto muy notorio. la viscosidad decrece más rápidamente cuando el pH de la solución es demasiado bajo o en su defecto, es muy alto (KERTEZ, 1951). Aquí se debe tener sumo cuidado, porque un ligero descuido en el control del pH, aun de una pequeña variación, puede causar serios problemas a las sustancias pécticas que se están obteniendo en la solución, es decir, se produce una degradación o disminución en el poder de gelificación por efecto del aumento de la temperatura. Con ello se produce un rompimiento de la cadena de las unidades de los ácidos galacturónicos, pues, se

produce un rompimiento del enlace glicosídico, ocurriendo una desesterificación total o parcial y también puede ocurrir una parcial o total despolimerización de estas sustancias (GUZMAN, 1977).

9. Usos de la pectina

Las características y cualidades de las pectinas, ha contribuido al desarrollo de las Industria Alimentaria y Farmacéutica, aplicándose indistintamente en cada una de ellas. Según A/S KOBENHAURS PEKTINFABRIK (1996?) se menciona sus principales usos :

a. En la Industria Alimentaria

1. Mermeladas y jaleas (Gelatinas)

Se utiliza pectinas de alto ester, se requiere azúcar de 55-85 % y un pH de 2.5 a 3.8. Estos requerimientos limitan los usos posibles de HM_pectina como un agente congelante a productos endulzados de fruta y casi el 80 % de la producción mundial de HM_pectina es usado en la fabricación de mermeladas y jaleas. La pectinas de bajo ester (LM) es usado en mermeladas pero con sólidos solubles por debajo

de 55 % ,aquí se requiere la adición de una sal de calcio o pectina de bajo ester en combinación con carragenina, este tipo de mermeladas son específicos para diabéticos.

2. Yogur de fruta

Se utilizan pectinas de bajo ester para crear una sustancia suave, el cual asegura una distribución uniforme de la fruta en el yogur.

3. Concentrados de fruta para beber

La pectina de alto ester se usa en bebidas concentradas de fruta, estabilizando cualquier suspensión de partícula de fruta o emulsiones de aceite. En esta aplicación la congelación es evidente sólo en el producto final como un efecto de espesamiento, como la textura coherente del gel se ha roto mecánicamente hasta obtener una corriente lisa.

4. Jugos de fruta

La pectina de alto ester encuentra uso en productos de jugo reccbinados para restaurar la apariencia al del jugo fresco.

5. Postres de fruta con leche

Una preparación enlatada de fruta contiene 2 % de pectina de baja metoxilo en un jarabe de fruta con 25-30 % de sólidos solubles y pH 4.0 se mezclan con una cantidad igual de leche fría para rápidamente saborear un postre de fruta con leche semi-gelatinoso.

6. Productos lecheros directamente acidificados y fermentados

La pectina reacciona con la caseína, impide la coagulación de la caseína a pH isoceléctrico (pH(4.6) y permite la pasteurización de los productos agrios de leche para extender su vida útil.

7. Productos congelados de leche

La pectina de bajo ester es preferido como agente congelante para budines agrios de leche u postres de leche combinados con fruta.

8. Productos de confitería

Se utiliza pectinas de alto ester

principalmente en la industria para hacer fruta solidificada.

b. En la industria farmacéutica

La profesión médica se interesa en el ácido galacturónico y sus derivados para la preparación de medicamentos, éste usado para el tratamiento de heridas como agente hemostático y como sustitutivo del plasma sanguíneo. Es usado también como desinfectante de metales pesados y venenosos mediante formación de sales. En la formación de complejos que retardan la acción de la insulina, penicilina, estreptomina, etc. También se utiliza en la preparación de medios de cultivo y tiene valor diético y nutritivo, estimula la saliva entre otros (NEUKOM, 1967).

III. MATERIALES Y METODOS

A. LUGAR DE EJECUCION

El presente trabajo de investigación se realizó en la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA - TINGO MARIA; los lugares en que se ejecutó el trabajo fueron:

1. Laboratorio de análisis de los alimentos, para la realización de análisis físicos-químicos del producto terminado y la optimización de los parámetros estudiados en la obtención de pectina.
2. Laboratorio de Nutrición para la realización del análisis físicos -químicos de la materia prima.

B. MATERIA PRIMA

La materia prima usada fue el exudado de cacao de la variedad híbrido considerando al fruto en su estado de madures óptimo (maduro), tanto para las pruebas preliminares y definitivas. La materia prima fue cosechado en el fundo o chacra del señor Iván Zecevich A.

C. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

1. Equipos

- Balanza digital electrónica, capacidad 100 g., Marca Sartorius Basic. Alemana.

- Balanza manual electrónica, capacidad 500 g.. Marca Labor MUSZERIPARI MUYEX. Hungría
- Baño maría.
- Balanza de plataforma.
- Cocina eléctrica.
- Estufa a vacío, tipo Lp_402 N° 79_7151. Hungría.
- Molino de muelas. Marca Griden, 1/3 HP. U.S.A.
- Mortero.
- Mufla, tipo LR_201, temperatura máxima 1200 °C. Hungría.
- Potenciometro de meza digital, rango 0_14, marca pH_Meter CG840, U.S.A.
- Refractometro manual de 0_100 % de sacarosa. Marca ABBE. Hungría.
- Refrigerador Lebel, tipo L_150. Hungría.
- Secador de tunel, con aire caliente.
- Viscosímetro rotacional, marca Brookfield RV. U.S.A.
- Microcomputadora. Software: SAS.

2. Materiales

- Alcoholímetro marca GAMMA. Chileno.
- Probetas de 50 ml.
- Buretas graduadas de 25 y 50 ml.
- Matraces erlenmeyer de 1 L.
- Embudos de vidrio.
- Termómetro de 0_150 °C.
- Otros materiales de vidrio y plástico para laboratorio,

cuchillos, baldes, tableros.

3. Reactivos

- El ácido clorhídrico concentrado QP.
- El ácido clorhídrico 0.1 N, 0.05 N.
- Alcohol etílico de 95 °GL.
- Sulfato de aluminio granulado.
- Acido citrico.
- Hidroxido de sodio 0.1 N, 0.5 N.
- Agua destilada.
- Diversos reactivos utilizados en el análisis proximal de la materia prima y del exudado.
- Pectina comercial.

D. METODOS DE ANALISIS

1. Caracterización de la madurez y macrocomponentes del fruto del cacao

a. Madurez

El estado de madurez se determino en forma visual por el color característico que presenta el fruto, cuando esta pinton y maduro la cáscara para cada caso se torna de verdoso a amarillo mate y anaranjado de

tono casi rojizo (NOVA, 1973).

b. Macrocomponentes

Se determinó los diferentes pesos correspondientes a cada componente del fruto (cascara, semilla, exudado), expresado en porcentaje.

2. Analisis fisico-químico del exudado.

a. Analisis fisico-químico

1. **Bx**; método refractométrico (Marco R. Meyer, 1992).

2. **pH**; método potenciométrico (Marco R. Meyer, 1992).

3. **Determinación de humedad**; este análisis se efectuó usando el método de la estufa, es decir la muestra se sometió a una temperatura de 110°C por 24 horas, recomendado por la A.O.A.C (1960).

4. **Determinación de cenizas totales**; se determinó usando el método de incineración, en una mufla a una temperatura de 600°C, durante 6 horas. (A.O.A.C., 1960).

5. Determinación de proteína total; se determinó usando el método micro Kjeldahl (A.O.A.C., 1960).
6. Determinación de grasa total; se determino por el método de soxhlet (A.O.A.C., 1960).
7. Determinación de fibra total; consiste en una hidrólisis alcalina y ácida (A.O.A.C., 1960).
8. Determinación de carbohidratos totales; se determino por diferencia, restando de 100 los porcentajes de humedad, grasa, ceniza, proteína y fibra (A.O.A.C., 1960).
9. Análisis del porcentaje de calcio, fierro, magnesio, potasio y fósforo; por espectrofotometría de absorción atómica.
10. Determinación de acidez titulable; La solución es titulada con hidróxido de sodio a 0.1 N, usando como indicador fenolftaleína (A.O.A.C., 1960).
11. Determinación del contenido de pectina como pectato de calcio, Se siguió el método recomendado por Carre y Haynes (RANGANNA, 1977).

b. Analisis fisicoquímico de la pectina**1. Caracterización químicas****a. Determinación del peso equivalente**

Se utiliza para los efectos del cálculo del ácido anhidrourónico en lo que se refiere al contenido y grado de esterificación. Se determina por titulación con NaOH con pH 7.5, utilizando el rojo de fenol o Hinton's (RANGANNA, 1977).

b. Determinación del ácido galacturónico.

Se utilizó el método recomendado por la FAO (FAO, 1978).

c. Determinación del porcentaje de esterificación

De la titulación del método anterior, por cálculo se encuentra el porcentaje de esterificación (FAO, 1978)

d. Determinación de grupos metoxilos

Se siguió el método recomendado por RANGANNA (1977).

e. **Determinación de Acetil**

Se siguió el método recomendado por RANGANNA (1977).

2. **Características físicas**

Se efectuaron los siguientes análisis:

a. **Determinación del grado de pectina**

Se siguió el método recomendado por RANGANNA (1977).

b. **Determinación de la temperatura de establecimiento**

Se siguió el método recomendado por RANGANNA (1977).

c. **Determinación del tiempo de formación del gel.**

Se determinó de acuerdo al método recomendado por RANGANNA (1977).

c. Análisis complementario

1. Determinación de la viscosidad aparente y características reológicas del gel.

Para esta prueba se preparó una solución con pectina comercial y pectina del exudado de cacao, con una concentración del 0.5 %, 30 °Bx y 3.2 de pH. Se utilizó el viscosímetro rotacional marca Brookfield RV, Spindle 1; el cual es recomendado por CHEFTEL (1976), para estudiar los fluidos no newtonianos.

El método de calculo Power Law, utilizado; recomendado por STEFFE (1992) consiste en:

a. Se calcula la velocidad angular (W), utilizando la fórmula:

$$W = 2 \times 3.1416 \times \text{RPM}/60$$

b. Se calcula el momento (M), utilizando la fórmula:

$$M = \text{lectura del dial} \times 71.87$$

c. Se transforman los datos de M a (N-m), sabiendo que 1N-m = 10⁷ dinas-cm.

d. Se obtiene el Ln(M) y Ln(W)

e. Se hace un análisis de regresión lineal considerando:

Variable independiente al $\ln(W)$

Variable dependiente al $\ln(M)$

- f. Se obtiene n , a partir de la expresión:

$$\ln(M) = n\ln(W) + \text{Cte}$$

- g. Con el valor de n se calcula dv/dy , utilizando la expresión:

$$\frac{dv}{dy} = \left(2 \frac{W}{n}\right) \left(\frac{\alpha^{(2m)}}{\alpha^{(2m)} - 1}\right)$$

Donde $\alpha = R_c/R_b$

R_b = radio del cilindro interno = 0.02346 m.

R_c = Radio del recipiente = 0.0485 m.

- h. El esfuerzo de corte (τ_{ao}) se calcula con la expresión:

$$\tau_{ao} = M / (2 \times 3.1416 \times R_b^2)$$

- i. Se obtiene el $\ln(\tau_{ao})$ y el $\ln(dv/dy)$
- j. Se hace un análisis de regresión lineal con $\ln(\tau_{ao})$ y $\ln(dv/dy)$
- k. Se obtiene la ecuación: $\ln(\tau_{ao}) = \ln m + n \ln(dv/dy)$
- l. Se calcula m , a partir de los datos del

análisis de regresión; Ej: $\text{Ln } m = 0.45$,
entonces $m = \text{AntLn } 0.45 = 1.57$

m. Se obtiene la ecuación general de la potencia:

$$\text{Ln } (\text{Tao}) = \text{Ln } m + n \text{ Ln}(dv/dy)$$

$$\text{TAO} = m \left(\frac{dv}{dy} \right)^n$$

n. Tao corregido se obtiene con la ecuación
definida en m.

E. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación se desarrollo teniendo en consideración el estudió en 3 etapas:

1. Caracterización del fruto del cacao y del exudado.
2. Estudio preliminar para la obtención de pectina.
3. Obtención y caracterización de la pectina.

A continuación se describe en forma general cada uno de las etapas mencionadas:

1. Caracterización del fruto del cacao y del exudado

a. Caracterización del fruto del cacao

La caracterización del fruto del cacao se realizó teniendo en cuenta el momento de cosecha (madurez) y la evaluación de los macroccomponentes del fruto.

Para determinar la madurez del fruto se considero la metodología que se indica en el inciso D.1.a y para la determinación de los macrocomponentes se considero la metodología del inciso D.1.b.

b. Caracterización del exudado

Para obtener el exudado se procedió de acuerdo con las siguientes operaciones: Selección y clasificación, lavado, Quiebra, prensado, filtración y almacenamiento.

En el exudado se realizaron los análisis fisicoquímicos que se indican en el inciso D.2.a; que comprende °Brix, pH, Determinación de humedad, ceniza, proteína total, grasa total, fibra, carbohidratos, calcio, hierro, magnesio, acidez titulable, pectina como pectato de calcio.

2. Estudio preliminar para la obtención de pectina

Para el estudio preliminar se planteó el flujograma de operaciones que se presenta en la figura 8, donde la variante básica se encuentra en la operación de precipitación en la que se usó sales de aluminio y alcohol de 95 G.L, absoluto teniéndose en cuenta como parámetros de evaluación el rendimiento y la calidad de la pectina obtenida.

a. **Definición del flujograma preliminar para la obtención de pectina**

1. **Exudado**

El exudado de cacao se obtuvo a partir de los frutos maduros los que fueron partidos con la finalidad de extraer las almendras las cuales fueron depositadas en cajones de madera con base perforada y mediante un ligero prensado se escurre el exudado, seguidamente se recibió en recipientes plásticos con cierre hermético para su posterior utilización.

2. **Filtración**

Se realizó con la finalidad de eliminar restos de cáscara y ciertas impurezas, para ello se usó tela tocuyo como filtro.

3. **Acondicionamiento del exudado**

Esta operación consistió en realizar un calentamiento del exudado a una temperatura de 80 °C por 75 minutos, a diferentes valores de pH; tal como se indica en el diseño experimental.

4. Precipitación

Esta operación se realizó utilizando el exudado acondicionado, para ello se usaron dos sustancias precipitantes (alcohol de 95 G.L y sales de aluminio) en tres concentraciones cada uno, para el primero 60, 65 y 70 con de pH 1.5, 1.7 y 1.9; para el segundo 20, 30 y 60 con pH de 4.0, 4.2 y 4.4 como se indica en el diseño experimental. En esta etapa se hicieron ensayos para determinar la cantidad adecuada de alcohol o sales de aluminio que consigan una precipitación óptima de pectina.

5. Filtración

Se realizó con tela tocuyo para obtener un producto "seco" que reduzca así el gasto de solvente a usar para el lavado del mismo.

6. Purificación

Se llevó a cabo con la finalidad de obtener un mejor color en la pectina, se realizaron los tratamientos recomendados por **ULLMAN (1953)** y **CHEFTEL (1976)** quienes sugieren.

- De 2 a 3 lavados con alcohol comercial.

- Lavado con alcohol etílico absoluto ligeramente acidulado pH (6 - 6.5).
- Los últimos lavados con alcohol etílico absoluto.

La evaluación de esta prueba fue realizada mediante apreciación visual de los diferentes tonos logrados en la pectina seca y molida.

7. Prensado

Esta operación se realizó en forma manual, con la finalidad de eliminar la mayor parte del líquido de lavado, con ayuda de una tela tocuyo. Los grumos formados fueron desmenuzados para facilitar la siguiente operación.

8. Secado

Con el objeto de reducir el contenido de humedad (alcohol y agua) de la pectina precipitada en niveles que permitan su conservación y forma característica del producto original; para lo cual se realizó pruebas en diferentes métodos de secado, como se detalla en el diseño experimental.

9. Molienda

Se realizará con la finalidad de obtener pectina en polvo ésta es molida con un mortero manual.

10. Tamizado

Se realizó con el fin de uniformizar el tamaño de partícula.

11. Envasado

La pectina obtenida es envasada y sellada, en bolsas de polietileno.

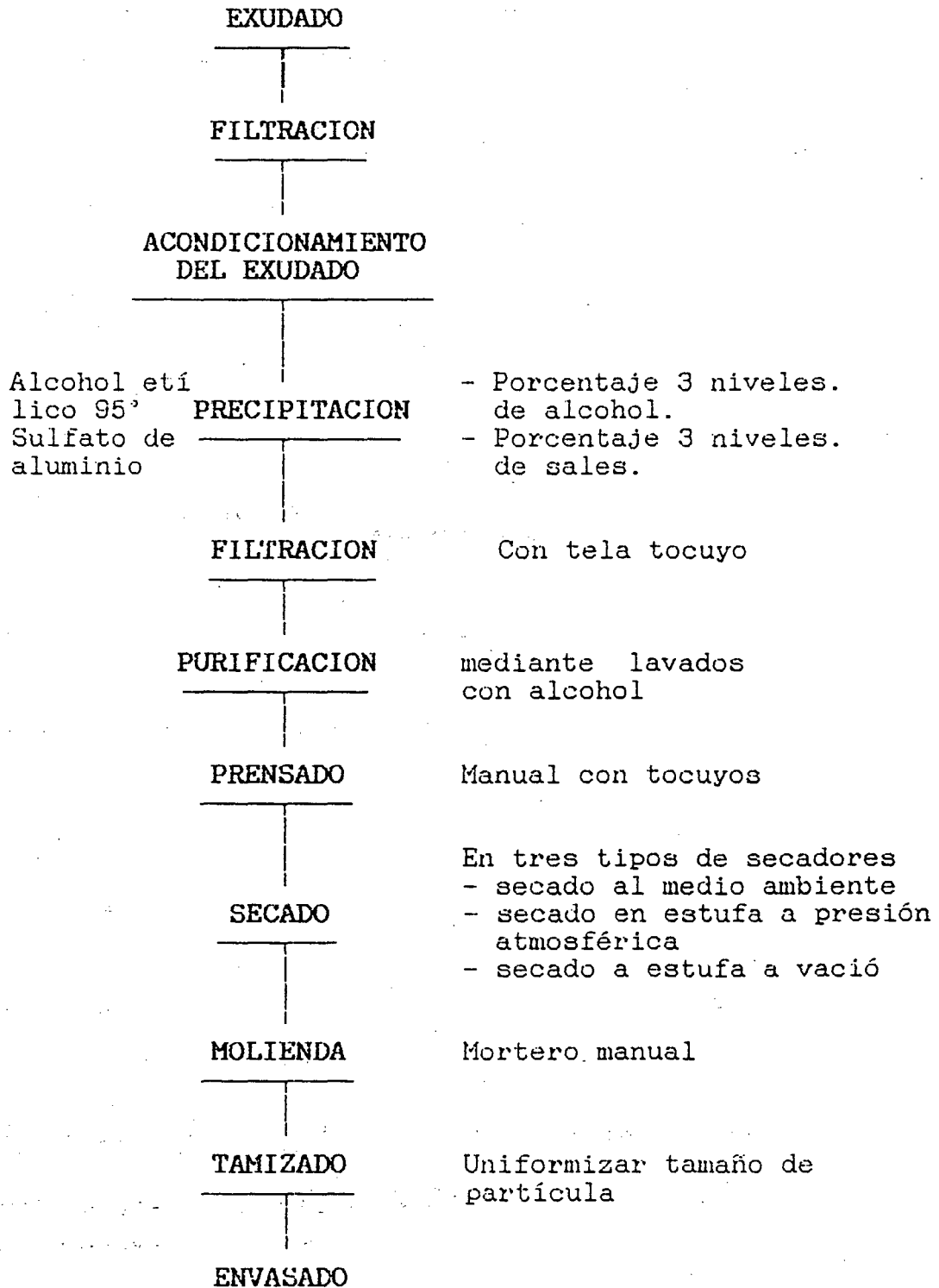


Figura 8: Flujo tentativo para la obtención de pectina a partir del exudado de cacao.

b. Diseño experimental

El diseño experimental se muestra en la Cuadro 4, donde se puede apreciar las diversas operaciones y variables en estudio. A continuación explicaremos algunos aspectos importantes.

1. Precipitación

En esta operación se utilizo alcohol y sulfato de aluminio como sustancias precipitantes en tres porcentajes; en el primer caso se utilizó: 60, 65 y 70 % con pH de 1.5, 1.7 y 1.9; para el segundo caso se empleó: 20, 30 y 60 % con pH de 4.0, 4.2 y 4.4.

2. Secado

Estudio hecho con el propósito de determinar el método de secado que proporcione una pectina de mejor calidad, se evaluará los siguientes métodos:

- Al medio ambiente con temperaturas aproximada de 25°C, dejándolo durante 24 horas en placas de vidrio.
- En estufa a presión atmosférica, se probó con temperaturas de 40 - 50 °C (VELIZ, 1984).

- En estufa a presión de vacío, a temperaturas de 35°C a 40°C y una presión de 0.7 Kp/cm . Esta prueba se evaluó por apreciación visual de las pectinas obtenidas en cada tratamiento.

Cuadro 4. Diseño experimental para la obtención de pectina.

O P E R A C I O N E S	MATERIA PRIMA	FILTRADO	ACONDICIONAMIENTO	PRECIPITADO	PURIFICADO	SECADO	MOLIENDA Y TAMIZADO	PRODUCTO FINAL
	Exudado de Cacao	Filtrado	Calentamiento a 80 °C por 75 min.	Alcohol etílico C1, C2, C3	Lavado con alcohol de 95 °GL	Vacio		
			Modificación del pH	C1, C2, C3 Sulfato de Al	ligramente acidulado	Estufa Medio Ambiente	Tamiz No ASTM 250 μ	PECTINA
A N A L I S I S	Indices de madurez pH Ac. Titulable ° Brix Apariencia	Apariencia	Temperatura Tiempo pH	Consistencia Color	- Nº de lavados - Color	Tiempo Temperatura	Tamaño partícula	Rendimiento Color

pH1, pH2, pH3 = Usados cuando se pp. con alcohol
pH4, pH5, pH6 = Usados cuando se pp. con sulfato de aluminio.

C1 = 60 % de alcohol. C4 = 20 % de sulfato de aluminio.
C2 = 65 % de alcohol. C5 = 30 % de sulfato de aluminio.
C3 = 70 % de alcohol. C6 = 60 % de sulfato de aluminio.

3. Obtención y caracterización de la pectina

Después de haber realizado el estudio preliminar para la obtención de pectina, se procedió a definir el flujograma óptimo, realizar una determinación de rendimiento y caracterización del producto terminado.

El flujograma óptimo se presenta en la parte de resultados y discusión, de igual manera la determinación del rendimiento.

Para caracterizar la pectina se realizaron los análisis físicos y químicos que se detallan en los numerales D.2.b.1 y D.2.b.2 de la parte de métodos de análisis.

Adicionalmente se realizó un análisis complementario que corresponde a la determinación de la viscosidad aparente y características reológicas del gel. La metodología utilizada se detalla en el numeral D.2.c.1.

F. ANALISIS ESTADISTICO

De acuerdo con DANIEL (1996), el análisis estadístico se puede realizar con un arreglo factorial de 3 x 3 con 3 repeticiones, utilizando el Diseño Completo al Azar (DCA), el cual se muestra a continuación y se esquematiza en el cuadro 5.

$$Y_{ijk} = U + \tau_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

$i = 1, 2, 3$ concentración del reactivo (niveles del factor A)

$j = 1, 2, 3$ valores de pH (niveles del factor B)

$k = 1, 2, 3$ ensayos (repeticiones)

donde :

Y_{ijk} = Rendimiento de pectina k -ésimo correspondiente al j -ésimo valor de pH sometido a la i -ésima concentración de reactivo.

U = Efecto de la media general.

τ_i = Efecto del i -ésima concentración de reactivo.

β_j = Efecto del j -ésimo nivel de pH.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción de los factores τ_i y β_j

E_{ijk} = Error experimental, efectos no controlados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A. CARACTERIZACION DEL FRUTO DEL CACAO Y DEL EXUDADO

1. Caracterización del fruto del cacao

a. Indices de madurez

En el cuadro 6 y en las figuras 9, 10; se presenta la variación de algunos índices de madurez del fruto del cacao evaluados en el exudado.

En estos resultados se puede apreciar de que existe una relación directa entre el índice de madurez y el porcentaje de pectina encontrado en el exudado; esto nos permite realizar una selección y clasificación más adecuada de los frutos de cacao en función al contenido de pectina y al color del fruto, que en éste caso el color amarillo es un buen indicador de la madurez adecuada, coincidiendo de esta manera con las características de la cosecha normal en función a la semilla.

La variación del pH está relacionado con la formación y desaparición de ácidos ionizables, lo que podría estar influyendo en los resultados obtenidos.

CUADRO 6. Variación de algunos índices de madurez evaluados en el exudado del cacao.

Muestra*	No	°Brix	Acidez** Titulable	pH	Índice de Madurez	Pectina %
Verde	01	14.5	0.8	3.8	18.1	0.8
Amarillo	02	16.0	0.9	3.7	17.8	1.2
(50 %)						
Amarillo	03	16.0	0.8	3.7	20.0	1.2
Amarillo	04	16.0	0.7	3.8	22.9	1.0
Oscuro						

* : El color se determinó por apreciación visual y en función a la cáscara.

** : La acidez se expresa en función al ácido cítrico monohidratado.

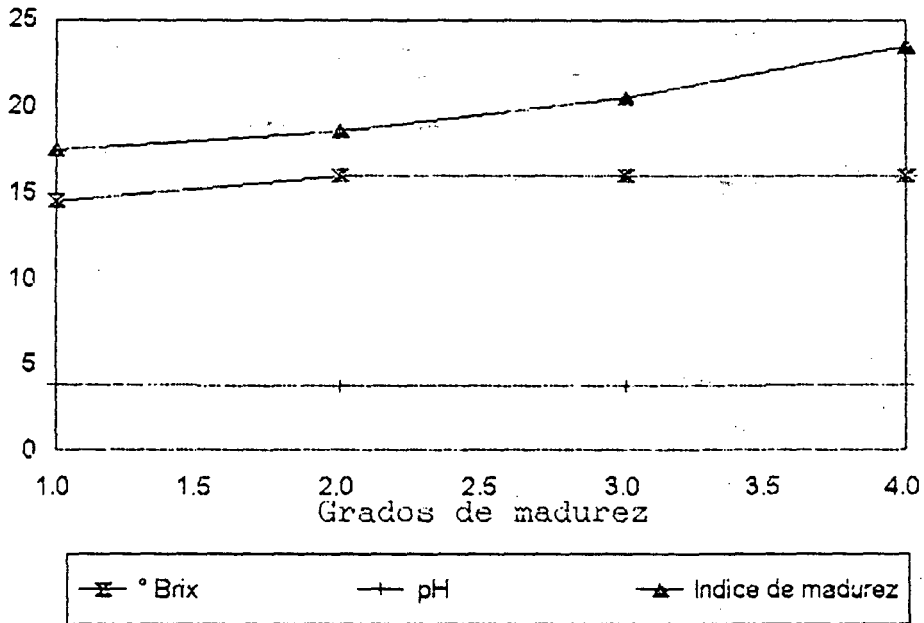


Figura 9. Variación del Índice de madurez, Brix y pH del fruto del cacao

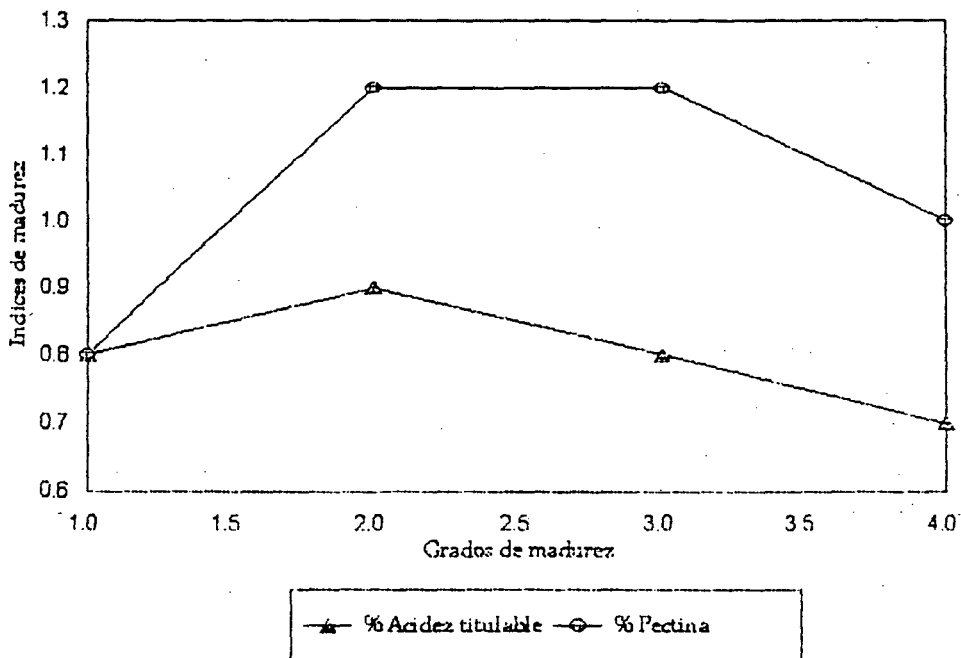


Figura 10. Variación de la pectina y acidez titulable (fruto de cacao)

b. Macrocomponentes

En el cuadro 7, se muestra los pesos correspondientes a cada macrocomponente del fruto de la variedad híbrido. Se aprecia que el exudado se encuentra en un porcentaje muy inferior con respecto a la cáscara, pero por ser un producto de desecho es importante para su industrialización.

CUADRO 7. Macrocomponentes del fruto del cacao.

MACROCOMPONENTE	Peso (kg)	Variedad Híbrido (%)
Cáscara	43	75.40
Semilla	12	21.10
Exudado	2	3.50
Total	57	100.00

c. Obtención del Exudado

Para cosechar los frutos se procedió de acuerdo con las siguientes operaciones:

1. Selección y clasificación

Se realizó la selección y clasificación con el fin de tener frutos maduros y sanos. Para determinar la madurez se considero el color amarillento característico, ya que en éste grado de madurez el exudado del cacao presenta un mayor contenido de pectina, tal como lo prueban los resultados del cuadro 6. Se desechan aquellos frutos que pueden estar muy verdes o sobremaduros y evitando los frutos infestados.

2. Lavado

Se efectuó el lavado de los frutos para eliminar las impurezas adheridas a ellos.

3. Quiebra

Los frutos limpios son partidos utilizandose un machete de acero inoxidable, extrayendose las almendras.

4. Prensado

Las almendras son depositadas en cajones tipo prensa donde por presión y gravedad se extrae el

líquido el cual constituye el exudado de cacao.

5. Filtrado

Se realizó utilizando tela tocuyo como filtro con la finalidad de eliminar restos de cáscara y ciertas impurezas.

6. Almacenado

El exudado de cacao se almacena en recipientes de plásticos a temperatura de 4°C, para luego ser utilizadas en el proceso de obtención de pectina.

2. Caracterización del exudado

Para caracterizar el exudado se realizaron las determinaciones químicas que se muestran en el cuadro 8, observándose en este los resultados de la composición química.

En los resultados mostrados se aprecia que el exudado de cacao presenta un alto porcentaje de agua, el cual puede variar de acuerdo a las condiciones climáticas; así mismo se aprecia que el exudado tiene bajo contenido de proteína, grasa, fibra y ceniza comparado

con los resultados reportados para la cáscara de cacao, trabajo realizado por PULGAR (1986); resaltando el mayor contenido de carbohidratos.

El contenido de pectina como pectato de calcio es bajo comparado con el contenido en otras frutas, tales como en cáscara de cítricos y manzanas.

El pH del exudado es ácido, comparado con el pH de la cáscara de cacao debido a la presencia de ácidos naturales producidos como consecuencia del proceso de maduración.

CUADRO 8. Composición Química del exudado de cacao.

Componente	Cacao
	Variedad híbrido
	%
Humedad	82.60
Carbohidratos	16.14
Proteína	0.42
Grasa	0.13
Fibra	0.29
Ceniza:	0.42
- calcio	40.11 mg/100
- Fósforo	16.59 mg/100
- Magnesio	148.80 mg/100
- Potasio	76.70 mg/100
- Hierro	24.63 mg/100
Contenido de Pectina (como pectato de calcio)	1.28
Acidez titulable (en ácido cítrico)	0.80
pH	3.60
°Brix	16.00

B. ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA OBTENCION DE PECTINA

Para la obtención de pectina en polvo se consideró el flujo tentativo que se muestra en la figura 8, donde se puede apreciar que las variables fueron el pH y las soluciones precipitantes, como el alcohol y el sulfato de aluminio, además se estudió el secado bajo 3 condiciones. El proceso de precipitación fue la operación más importante en la obtención de pectina ya que de esto dependió la calidad y el rendimiento de la misma.

1. Precipitación

Como ya indicamos en materiales y métodos la precipitación se realizó utilizando alcohol y sulfato de aluminio a diferentes concentraciones y 3 niveles de pH.

a. Precipitación con alcohol etílico.

En esta operación se trabajo bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura del exudado 25 °C.
- El alcohol se utilizó a una temperatura de 12 °C, temperatura a la cual la precipitación se produce en forma más adecuada (BRAVERMAN, 1980)
- Las concentraciones de alcohol utilizadas estan de

acuerdo a lo indicado en la parte de materiales y métodos y en el cuadro 4.

Después de agregar el alcohol, se pudo notar en forma inmediata la formación de un coágulo blanquecino, con la presencia de un sobrenadante semitransparente, de una tonalidad amarillo claro.

BRAVERMAN (1980), reporta que una pectina forma gel con la presencia de un agente deshidratante como el alcohol o la acetona; siendo estas sustancias típicos agentes deshidratantes, empleados para la precipitación de la pectina a partir de una solución. Lo anterior explica el hecho de que se haya ensayado diferentes concentraciones de alcohol en la operación de precipitación; resultando más adecuada la mayor concentración del 70 %.

En el cuadro 9, se puede apreciar que se han evaluado 9 tratamientos (T1, T2, ..., T9), cuyos resultados se reportan en porcentaje de pectina obtenida. Estos resultados fueron evaluados mediante el diseño BCA con arreglo factorial, cuyo análisis de variancia se muestra en el cuadro 10. En éste ANVA se puede apreciar de el modelo, bloques y pH presentan una alta significación estadística, mientras que las concentraciones de alcohol (CONC) y la interacción

CUADRO 9. Rendimiento de Pectina en función de las concentraciones de alcohol etílico y pH con 3 repeticiones.

BLOQUES	T R A T A M I E N T O								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	Alcohol 60 %			Alcohol 65 %			Alcohol 70 %		
	pH			pH			pH		
	1.5	1.7	1.9	1.5	1.7	1.9	1.5	1.7	1.9
1	0.74	0.56	0.93	1.49	0.93	1.30	1.49	0.93	1.68
2	0.56	0.56	0.93	0.56	0.56	0.74	0.56	0.56	0.93
3	0.74	0.74	1.12	0.93	0.74	1.12	0.74	0.74	1.12
$\bar{x}(\%)$	0.68	0.62	0.99	0.99	0.74	1.05	0.93	0.74	1.24

CUADRO 10. Análisis de variancia del rendimiento de pectina obtenido en función a la concentración de alcohol etílico de 95° y pH.

Fact. Var.	G.L	S.C.	C.M.	Fc	Pr>F	Sig
Modelo	10	1.93282	0.1932	4.63	0.0033	**
BLOQUE	2	0.92935	0.4646	11.14	0.0009	**
A	2	0.21708	0.1085	2.60	0.1051	N.S.
B	2	0.70615	0.3530	8.46	0.0031	**
AxB	4	0.08022	0.0200	0.46	0.7495	N.S
ERROR	16	0.66744	0.0417			
Correc. total	26	2.60026				

R Cuadrado = 0.743317 C.V. = 22.9774 RESP: PROMEDIO

A = Concentración de alcohol.

B = pH.

concentración \times pH (CONC*PH) no muestran significación (DANIEL, 1996).

Al no haber evidencias estadísticas de una posible interacción entre las concentraciones de alcohol (factor A) y el pH (factor B), en el rendimiento promedio de pectina; nos remitimos a las conclusiones de los efectos principales. De estos se obtiene, que existe una alta diferencia estadística entre los rendimientos promedios por efecto de la variación del pH. Lo anterior nos indica que debemos realizar una prueba estadística para determinar el mejor tratamiento, para lo cual empleamos la prueba de Tukey.

En el cuadro 11, se presentan los resultados de la prueba de Tukey, los cuales nos indican de que el bloque 1 (repetición 1) presenta un mejor promedio, de igual manera destaca la tercera concentración de alcohol utilizada (70 %), mientras que el mejor pH corresponde al tercer nivel empleado (pH 1.9).

Finalmente podemos indicar de que para un α 0.05, se puede concluir que entre los rendimientos promedios obtenidos con los 3 niveles de pH, existen diferencias y que con el pH3 y la concentración 3; se obtienen mayores rendimientos promedios, por lo tanto

CUADRO 11. Prueba de Tukey de los rendimientos promedios de la pectina obtenida a diferentes concentraciones de alcohol etílico de 95° en función del pH.

Variabilidad . Tukey		Promedios	N	
			Bloques	
	A	1.1167	9	1
	A	0.8878	9	3
	A	0.6622	9	2
Concentración Alcohol (A)				
	A	0.9722	9	3
	A			
	A	0.9300	9	2
	A			
	A	0.7644	9	1
pH (B)				
	A	1.0967	9	3
	A			
B	A	0.8678	9	1
B				
B		0.7022	9	2

podemos indicar de que el tratamiento 9 (T9), al que corresponden estas características, es estadísticamente superior.

b. Precipitación con sulfato de aluminio

Este método requiere la utilización de sulfato de aluminio para realizar la precipitación. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 12.

Se trabajo bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura del exudado 25 °C.
- Temperatura de la solución de sulfato de aluminio 25 °C.
- La solución de sulfato de aluminio se agrega exudado acondicionado, con agitación constante.

Inmediatamente después de agregar la solución de sulfato de aluminio, se pudo notar la aparición de una coloración lechosa, luego a los 10 minutos aproximadamente se produjo la precipitación, formandose un sedimento de color blanco amarillento y un sobrenadante semitransparente, de una tonalidad amarillo más intenso que en el obtenido con el método anterior.

BRAVERMAN (1980), indica de que la precipitación de las pectinas puede realizarse aprovechando el hecho de que algunas sales minerales, como el sulfato de aluminio, en estado coloidal, llevan una carga

eléctrica de signo opuesto al de los ácidos pectínicos negativamente cargados, estos son entonces, capaces de coagular la pectina a partir de soluciones acuosas.

Como producto de la utilización del sulfato de aluminio, como sustancia precipitante, se pudo determinar que la concentración del 60 %, produjo un mayor rendimiento aparente. Los resultados se muestran en el cuadro 12.

Los resultados que se muestran en el cuadro 12, fueron evaluados estadísticamente, utilizándose la misma metodología indicada en la parte del análisis estadístico.

En éste cuadro podemos observar que el tratamiento T9, presentó el mayor rendimiento promedio aparente, con un porcentaje de 1.24. Los resultados fueron evaluados mediante un análisis de varianza, utilizándose un arreglo factorial con un modelo DECA.

Los resultados del ANVA se muestran en el cuadro 13. Estos resultados indican de que no existen diferencias estadísticas cuando se evalúa el efecto de los bloques, pH y el efecto de la interacción de la concentración de sulfato de aluminio y el pH

(CONC*pH); pero si existe una alta significación cuando evaluó el efecto de la concentración (CONC) del sulfato de aluminio. Por esta razón nos remitimos a las conclusiones de los efectos principales (efecto de las concentraciones), dando lugar a la aplicación de la prueba de Tukey.

En el cuadro 14, se muestran los resultados de la prueba de Tukey, los cuales confirman de que el efecto de los bloques y pH, no tienen significación estadística; pero el efecto de la concentración de sulfato de aluminio sobre el rendimiento de pectina, si tiene significación, destacandose la tercera concentración (60 %).

Finalmente podemos indicar, que para un $\alpha = 0.05$, se puede concluir que entre los rendimientos promedios obtenidos de pectina, con los tres niveles de concentraciones de sulfato de aluminio se presentan diferencias estadísticas, destacandose la tercera concentración (60 %) y el tercer nivel de pH; lo anterior nos permite indicar de que el tratamiento T9, es estadísticamente superior.

CUADRO 12. Rendimiento de pectina obtenida en función de la concentración de sulfato de aluminio y el pH con 3 repeticiones.

BLOQUES	T R A T A M I E N T O S								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Sulfato 20 %			Sulfato 30 %			Sulfato 60 %			
pH			pH			pH			
4.0	4.2	4.4	4.0	4.2	4.4	4.0	4.2	4.4	
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.49	1.49	1.49
2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.74	0.74	1.12
3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.56	0.74	1.12
■ (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.93	0.99	1.24

CUADRO 13. Análisis de variancia del rendimiento de pectina obtenido con diferentes concentraciones de sulfato de aluminio a diferentes niveles de pH.

Fact. Var.	G.L	S.C.	C.M.	Fc	Pr>F	Sig
Modelo	10	7.12344	0.7123	17.10	0.0001	**
BLOQUE	2	0.28636	0.1431	3.44	0.0573	N.S.
A	2	6.67111	0.3355	80.07	0.0001	**
B	2	0.05531	0.0276	0.66	0.5284	N.S.
AxB	4	0.11064	0.0276	0.66	0.6261	N.S.
ERROR	16	0.66504	0.0416			
Correc. total	26	7.78994				

R Cuadrado	C.V.	RESP. PROMEDIO
0.9144	58.0683	0.35146

A = Concentración de Sulfato de Aluminio.

B = pH.

CUADRO 14. Prueba de Tukey de los rendimientos promedios de pectina obtenida a diferentes concentraciones de sulfato de aluminio en función del pH.

Variabilidad	Tukey	Promedios	N	Blques
A		0.4967	9	1
A				
A		0.2689	9	2
A				
A		0.2689	9	3
Concentración Alcohol (A)				
A		1.0544	9	3
B		0.0000	9	2
B				
B		0.0000	9	1
pH (B)				
A		0.4144	9	3
A				
A		0.3300	9	1
A				
A		0.3100	9	2

CUADRO 15. Rendimiento en la obtención de pectina en los diferentes tratamientos.

Trat.	solución precipitante	Concent. %	pH	Bloques			Rendimiento g	⊙
				1	2	3		
T1			1.5	0.74	0.56	0.74	0.68	
T2		60	1.7	0.56	0.56	0.74	0.62	pectina
T3			1.9	0.93	0.93	1.12	0.99	pura
T4	Alcohol		1.5	1.49	0.56	0.93	0.99	
T5	95 G.L	65	1.7	0.93	0.56	0.74	0.74	pectina
T6			1.9	1.30	0.74	1.12	1.05	pura
T7			1.5	1.49	0.56	0.74	0.93	
T8		70	1.7	0.93	0.56	0.74	0.74	pectina
T9			1.9	1.68	0.93	1.12	1.24	pura
T1			4.0	0.00	0.00	0.00	0.00	
T2		20	4.2	0.00	0.00	0.00	0.00	trazas de
T3			4.4	0.00	0.00	0.00	0.00	pectina
T4	sulfato de		4.0	0.00	0.00	0.00	0.00	
T5	aluminio	30	4.2	0.00	0.00	0.00	0.00	trazas de
T6			4.4	0.00	0.00	0.00	0.00	pectina
T7			4.0	1.49	0.74	0.56	0.93	pectina
T8		60	4.2	1.49	0.74	0.74	0.99	con sulfato
T9			4.4	1.49	1.12	1.12	1.24	de aluminio

⊙ = observaciones.

Concluyendo podemos decir que según el cuadro 15 y los análisis de variancias y prueba de Tukey que aparecen en los cuadros 10 y 11 para el alcohol, 13 y 14 para el sulfato de aluminio, podemos manifestar que los mejores rendimientos aparentes en la obtención de pectina se obtienen con la concentración de 70 % de alcohol y a un pH de 1.9 y con la concentración de 60 % de sulfato de aluminio a un pH de 4.4.

Con el fin de evaluar la calidad de la pectina obtenida con los diferentes tratamientos y la mejor concentración de sustancia precipitante, se realizó el análisis de ceniza; al respecto la FCC (Food chemicals codex, 1972), indica que el contenido máximo de cenizas en pectinas comerciales no debe ser mayor al 10 % y la FAO (1983), indica que el contenido máximo debe ser 6 %.

Comparando las especificaciones técnicas con los resultados obtenidos, que se muestran en el cuadro 16; podemos determinar que ninguno de los tratamientos realizados con el empleo de sulfato de aluminio al 60 %, como sustancia precipitante, se adecua a las normas técnicas; sucediendo todo lo contrario para los tratamientos que utilizan alcohol de 95 %A, al 70 %.

CUADRO 16. Análisis de ceniza de la pectina obtenida con alcohol (70 %) y sulfato de aluminio (60 %).

Solución precip.	pH	Humedad %	ceniza %
Alcohol	1.5	8.5	1.34
95 G.L	1.7	9.8	1.33
70 %	1.9	9.2	1.33
Sulfato de aluminio	4.0	10.1	17.97
	4.2	10.0	17.96
60 %	4.4	10.5	19.43

De acuerdo al análisis de los resultados del rendimiento en el proceso de obtención de pectina, teniendo en cuenta el porcentaje obtenido, análisis estadístico, prueba de Tukey y reglamentaciones técnicas; podemos concluir indicando de que el mejor tratamiento es el T9, cuyas características son:

- Concentración del alcohol de 95° G.L.: 70 %.
- pH: 1.9.
- Rendimiento: 1.24 %.

2. Secado

En ésta operación se estudió la forma de secado evaluandose la humedad del producto final comparando el color con una pectina comercial. La evaluación del color se realizó mediante apreciación visual, obteniéndose los resultados que se muestran en el cuadro 17.

CUADRO 17. Características de la pectina obtenida por diversas formas de secado en función a la humedad y color.

Característica	Método de secado		
	1	2	3
Humedad	Húmedo	9.2	10.5
Color (4)	+	+++	++

1: Secado a temperatura ambiente, promedio 25 °C x 24 hrs.

2: Secado a estufa, presión de vacío, 40 °C, 0.8 Kp/cm² x 24 hrs.

3: Secado a estufa, presión atmosférica, 40_45 °C x 5 hrs.

4: Color más adecuado +++.

Los resultados del cuadro 17, indican de que el mejor método de secado; es el secado a estufa con presión de vacío, ya que se obtiene un contenido de humedad de 9.2 % y un mejor

color. La humedad obtenida se encuentra dentro del rango normalizado por la FAO (1978), la que indica un contenido menor al 10 %. Estos resultados permitieron determinar que el mejor método de secado, es con estufa a presión de vacío.

C. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA PECTINA

1. Definición del flujograma de obtención

Las pruebas preliminares permitieron determinar los parámetros óptimos para la obtención de pectina a partir del exudado de cacao, estableciéndose el diagrama de flujo definitivo que se presenta en la figura 11.

a. Exudado

El exudado filtrado contenía un 82 % de humedad, un pH de 3.6 y un índice de madurez de 20.5, fue almacenado a 4°C en un refrigerador para inhibir las reacciones bioquímicas de deterioro.

b. Acondicionamiento del exudado

Se realizó ajustándose previamente el pH a 1.9 con ácido clorhídrico al 0.1 N, para luego proceder a un calentamiento a 85°C por 75 minutos.

c. Precipitado

Para precipitar la pectina se agregó alcohol absoluto de 95 G.L en un porcentaje de 70 %.

d. Filtración

después del precipitado se tiene una sustancia gelatinosa y un líquido que contiene componentes del exudado que no precipitan con el alcohol como los carbohidratos y azúcares, lo que es necesario eliminar. Se filtra utilizando tela fina de seda para retener el precipitado.

e. Purificación

Se realizó mediante 4 lavados : dos con alcohol etílico absoluto ligeramente acidulado (6.0 - 6.5), luego un lavado con alcohol comercial y finalmente un lavado con alcohol etílico absoluto, método recomendado por PULGAR (1986), consiguiéndose un precipitado con un color crema traslucido.

f. Prensado

Esta operación se realizó con la finalidad de eliminar el mayor contenido de líquido del lavado con ayuda de tela tocuyo, comprimiéndolo manualmente quedando el producto con una humedad promedio de 62.5 %, luego los grumos grandes de precipitado se desmenuzan para facilitar el secado.

g. Secado

El precipitado obtenido fue secado en un estufa a presión de vacío a una temperatura de 40 °C, 0.8 Kp/cm² x 24 hrs, la pectina toma un color crema amarillento, coincidiendo con lo indicado por RAFFOLS (1966), quien recomienda temperaturas entre 40-45°C.

h. Molienda

Esta operación se realizó con la finalidad de transformar la pectina en polvo, y se hace utilizando un mortero de porcelana.

i. Tamizado

El tamizado permitió obtener pectina con partículas de tamaño uniforme, para lo cual se utilizó un tamiz ASTM de 250 μ .

j. Envasado

Para el envasado se utilizaron bolsas de polietileno de 60 μ de espesor, con el fin de prolongar la conservación.

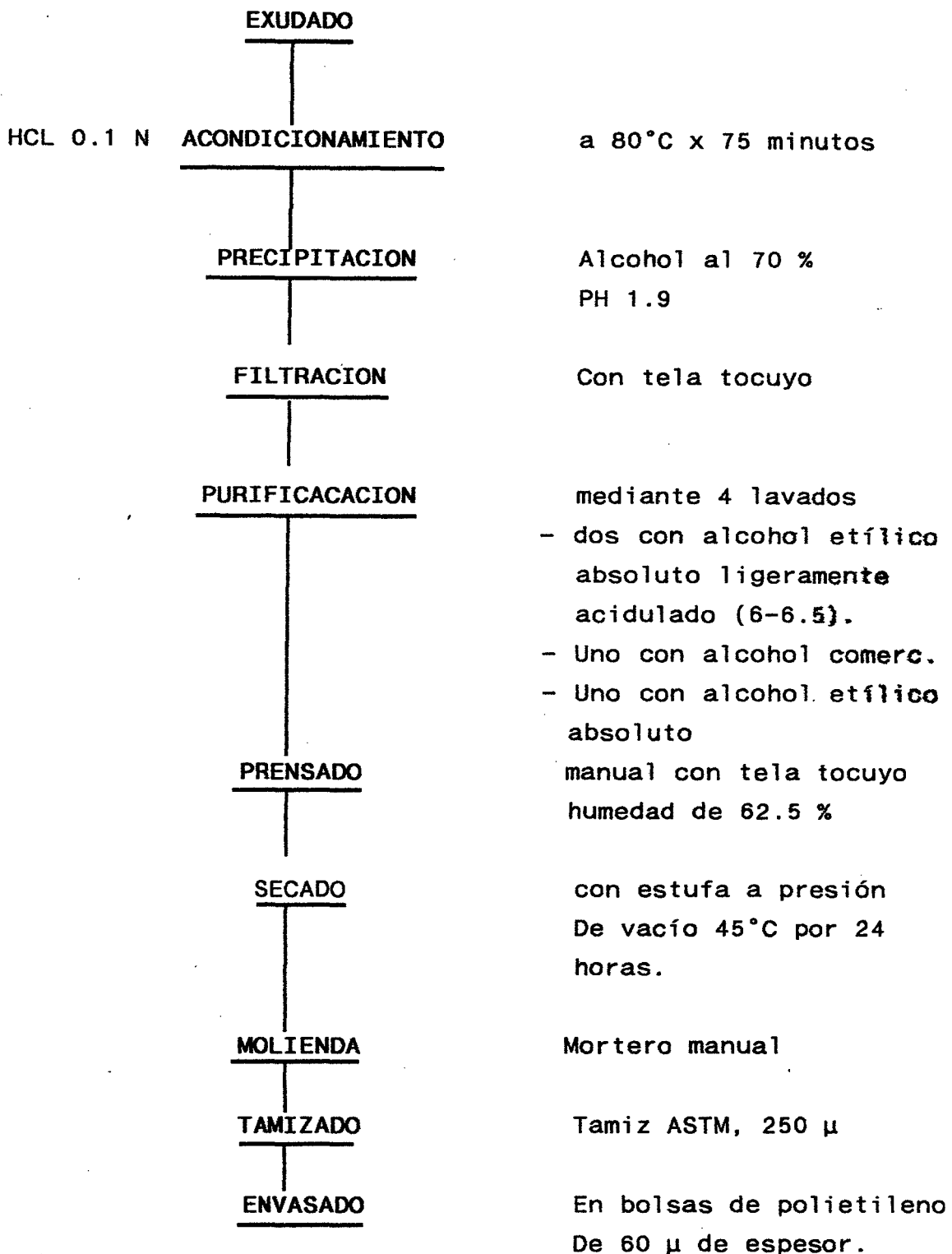


FIGURA 11. flujograma definitivo para la obtención de pectina en polvo a partir de exudado de cacao.

2. Rendimiento

El rendimiento se cálculo, teniendo en cuenta el contenido de pectina determinado como pectato de calcio (1.28 %) y la cantidad obtenida mediante el proceso de extracción, mediante precipitación con alcohol al 70 % (1.24 %); obteniéndose un rendimiento de extracción del 96.88 %.

3. Caracterización de la pectina

a. Caracterización Química

Entre las evaluaciones realizadas tenemos la determinación del grado de esterificación, contenido de metoxilo, peso equivalente, contenido de ácido galacturónico y valoración de acetyl; resultados que se muestran en el cuadro 18.

Analizando el grado de esterificación (G.E.) Igual a 28.45 %, que caracteriza a la pectina obtenida y entendiéndose que el G.E. viene a ser el número de grupos metil expresados como porcentaje del número de grupos -COOH (ALAIS, 1991); o representa el número de grupos carboxil esterificados, calculados como porcentaje del número total de unidades de ácido galacturónico (DOESBURG, 1965); podemos indicar que

el G.E. obtenido en la pectina del exudado de cacao, la clasifica a esta como pectina de bajo grado de metilación (LMP).

CUADRO 18. Características químicas de la pectina obtenida del exudado de cacao.

Características	%
Humedad	9.20
Ceniza	1.33
Grado de esterificación	28.45
Contenido de metoxilo	6.32
Contenido de Acido galacturónico	58.72
Peso equivalente (gr)	495.90
Valoración de Acetil	0.70
Calcio mg/100 g.	14.57
Magnesio mg/100 g.	51.31
Hierro mg/100 g.	22.88

Se conoce que las pectinas de alto grado de metilación (HMP) con porcentajes alrededor de 70 % forman geles en medios ácidos, con alto contenido de azúcar y pectinas con bajo grado de metilación (LMP), con porcentajes menores a 50 %, producen geles en

medio poco ácido y con bajo contenido de azúcar, pero con la presencia de calcio u otro catión divalente. El hecho de que la pectina obtenida a partir del exudado de cacao sea LMP, es de singular importancia, dado la amplia aplicación que tendría en la elaboración de productos dietéticos, tales como mermeladas, jales y otros que requieran pectina (ALAIS, 1991).

Be MILLER (1986), indica que la hidrólisis catalizada por ácidos, se produce preferentemente en los enlaces glucosídicos L_rhamno piranosil y la hidrólisis de estos enlaces produce cadenas de galacturnoglicanos (galacturcnoglycan) con un grado de polimerización cercano a 25; referencia que presenta un valor cercano al obtenido en la pectina del exudado de cacao (28.45 %).

Respecto al contenido de metoxilos en la pectina, DOESBURG (1965), indica de que cuando los grupos carboxílicos en ácidos poligalacturonicos puros, se encuentran esterificados, el contenido de metoxilos es de 16.32 % y el G.E. 100 %. En nuestro caso se ha obtenido 6.32 % de metoxilos, contenido que se encuentra en el rango normal encontrado en frutas naturales, siendo el porcentaje más alto generalmente cercano a 13.5 %; indicando además de que todos los

grupos carboxílicos de la pectina obtenida no se encuentran esterificados.

También podemos indicar de que el contenido de metoxilos encontrado en la pectina del exudado, es menor al contenido presente en la pectina de cáscara de cacao, tanto al estado maduro como pintón, siendo estos 7.9 % y 9.2 % respectivamente (PULGAR, 1986). Las diferencias en los contenidos tienen relación con el proceso de metilación por efecto de las enzimas o acción de los ácidos, durante el proceso de maduración, es decir a mayor grado de madurez, menor grado de metilación (CHEFTEL, 1976).

El contenido de ácido galacturónico indica la pureza de la pectina, de acuerdo con A/S KOBEN HAUNS PEKTIFFABRIK (1996?) si el contenido es menor a 70 %, el grado de pureza es bajo; por otro lado reporta que la pectina cítrica de alta pureza tiene un contenido de ácido galacturónico por encima de 74 %. El resultado para la pectina obtenida del exudado de cacao 58.72 %, la clasifica como pectina de baja pureza.

Se conoce que el peso equivalente también es dependiente del grado de esterificación y que una pectina de alto metoxilo (HMP) tiene en promedio un

peso equivalente de 1000 (DOESBURG, 1965); por lo tanto el peso equivalente encontrado en la pectina del exudado de cacao 469.9, también lo caracteriza como pectina de bajo metoxilo.

Analizando el contenido de grupos acetilos y entendiéndose de acuerdo con DOESEBURG (1965), que ácidos pectínicos con alto grado de polimerización con grupos acetilos tienen poca fuerza para gelificar y que la FAO (1978), establece un contenido máximo de grupos acetilos de 1 %; comparando con el contenido encontrado en la pectina del exudado (0.7 %), podemos indicar de que el valor obtenido se encuentra dentro de los límites técnicos y que no tendría problemas de gelificación.

Se sabe que la presencia de calcio es importante para la gelificación de pectinas LM (RAFFOLS, 1966), de acuerdo al análisis químico realizado apreciamos de la pectina en estudio presentó 14.57 mg de calcio/100 g. Se ha reportado también que las pectinas LM requieren además de iones de calcio un pH de 2.8 - 6.5, ya que en estas condiciones los carboxilos se encuentran ionizados y pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca^{++} , de esta manera se crea la estructura básica del gel, en la cual, a su vez, los hidroxilos del ácido

galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno (BADUI, 1993). Adicionalmente se sabe que siempre que la longitud de la molécula sea suficiente, se puede obtener la gelificación con cantidades de calcio inferiores a 0.1 %, aun en ausencia total de azúcar y ácido.

RAFFOLS (1966), indica de que el contenido de ceniza debe ser menor al 6 %; la FCC (1972) ha normalizado que la pectina debe tener un contenido máximo de 10 %, valores que se encuentran muy por encima de lo encontrado en la pectina del exudado, el cual es igual a 1.33 %.

Finalmente podemos concluir de acuerdo con las características químicas de la pectina obtenida del exudado de cacao, de que esta es una pectina de bajo grado de esterificación (LMP) y que presenta una pureza media (58.72 %) de ácido galacturónico.

b. Caracterización Física.

Pruebas cuya mayor importancia radica en la aplicación industrial de la pectina, los resultados encontrados guardan relación con las características químicas determinadas y se muestran en el cuadro 19. Las características físicas más importantes son:

Grado de gelificación, tiempo de establecimiento y temperatura de establecimiento.

El valor encontrado para el grado de gelificación de la pectina obtenida del exudado de cacao es igual a 100°, valor similar al de la pectina obtenida de cáscara de cacao (PULGAR, 1986); se sabe que conforme madure el fruto, la pectina va sufriendo un desdoblamiento, disminuyendo así su poder gelificante. Este comportamiento se observa en la pectina extraída a partir de guayaba madura (94°) y guayaba pinton (100°) (FERRO-CASTELBLANCO, 1969). El grado de gelificación o grado de pectina tiene importancia significativa, ya que está determina las condiciones necesarias para preparar un gel, expresando el número de partes o peso de azúcar que gelifican una parte de pectina bajo condiciones específicas de pH (3.5) y porcentajes de sólidos solubles aproximado, a 65 %. En el comercio las pectinas se encuentran en un rango de grados de pectina entre 100 y 250, dependiendo de la procedencia, condiciones y tiempo de almacenamiento.

El tiempo de establecimiento encontrado en el presente trabajo (1 hora con 10 minutos y temperatura 35°C), indican de que se trata de una pectina de gelificación lenta, lo que esta relacionado con el

porcentaje de esterificación (28.45%) ya que estos valores permiten predecir la velocidad de gelificación de la pectina (DOESBURG, 1965).

En conclusión, los resultados de la caracterización físico-química de la pectina del exudado, obtenidos en el presente trabajo de investigación; indican que de todas las pruebas realizadas las más importantes son: Grado de esterificación, Grado de metilación y grado de gelificación. Definiéndose que se trata de una pectina de buena calidad comparado con otras materias primas tropicales que tienen valores inferiores como reporta FRANCIS citado por VELIZ (1985).

CUADRO 19. Características físicas de la pectina obtenida del exudado de cacao.

Característica

Grado de gelificación	100.00
Tiempo de establecimiento (min)	1 hr; 10 min
Temperatura de establecimiento (°C)	35°C

c. Análisis complementario

a. Determinación de la viscosidad aparente y parámetros reológicos

En forma complementaria se realizó pruebas para caracterizar la solución de pectina, tanto para la pectina comercial como para la pectina en estudio (exudado de cacao). Los resultados se muestran en los cuadros 20, 21 (y en el Anexo 3, en los cuadros 22 y 23) y en los reogramas en las figuras 12, 13, respectivamente.

En el cuadro 22 (Anexo 3), se pueden apreciar los datos para la solución de pectina comercial, obtenidos con el viscosímetro Brookfield, a diferentes velocidades, utilizando el Spindle 1; también se presenta la velocidad angular (ω) el torque (M) y sus respectivos logaritmos. Al aplicar el análisis de regresión lineal al $\ln(M)$ y $\ln(\omega)$, como variables independientes y dependientes respectivamente; se obtiene el valor de la viscosidad aparente ($n = 1.2009$), con un $R^2 = 0.9848$, de acuerdo al método Power Law. El valor de n , permite caracterizar a la solución de pectina comercial como fluido dilatante (Shear-Thickening), ya que estos fluidos presentan

valores de $n > 1$ y $n < \infty$ (STEFFE, 1992).

En el cuadro 20, se presenta el esfuerzo de corte τ_{AO} en Pascales (Pa) y la velocidad de deformación (dv/dy) en seg^{-1} , así como los logaritmos respectivos, a partir de los cuales se hizo un análisis de regresión lineal, con el fin de obtener el valor del índice de consistencia ($m = 0.0266$).

CUADRO 20. Resultados de la prueba reológica de la solución de pectina comercial a 25 °C (Viscosímetro Brookfield RV, $R_b = 56.26$ mm., $R_c = 83.4$ mm., $h = 61.12$ mm.)

Tao (Pa)	dv/dy (1/s)	Ln(Tao)	Ln(dv/dy)	Tao Corregido
0,03215	0,9067	-3,43730	-0,09796	0,023681
0,04823	1,8134	-3,03183	0,59519	0,054438
0,09645	3,6268	-2,33868	1,28834	0,125144
0,25721	7,2535	-1,35786	1,98149	0,287685
0,88417	18,1338	-0,12311	2,89778	0,864577
2,34706	36,2675	0,85316	3,59092	1,987516

Con la obtención de los parámetros reológicos es posible definir la ecuación que gobierna el comportamiento del fluido en estudio, la cual se presenta a continuación:

$$TAO = 0.02664 \left(\frac{dv}{dy} \right)^{1.2289}$$

Con la ecuación anterior se cálculo el valor de TAO corregido, el reograma respectivo se presenta en la figura 12. En este reograma se puede apreciar el comportamiento dilatante de la solución de pectina comercial.

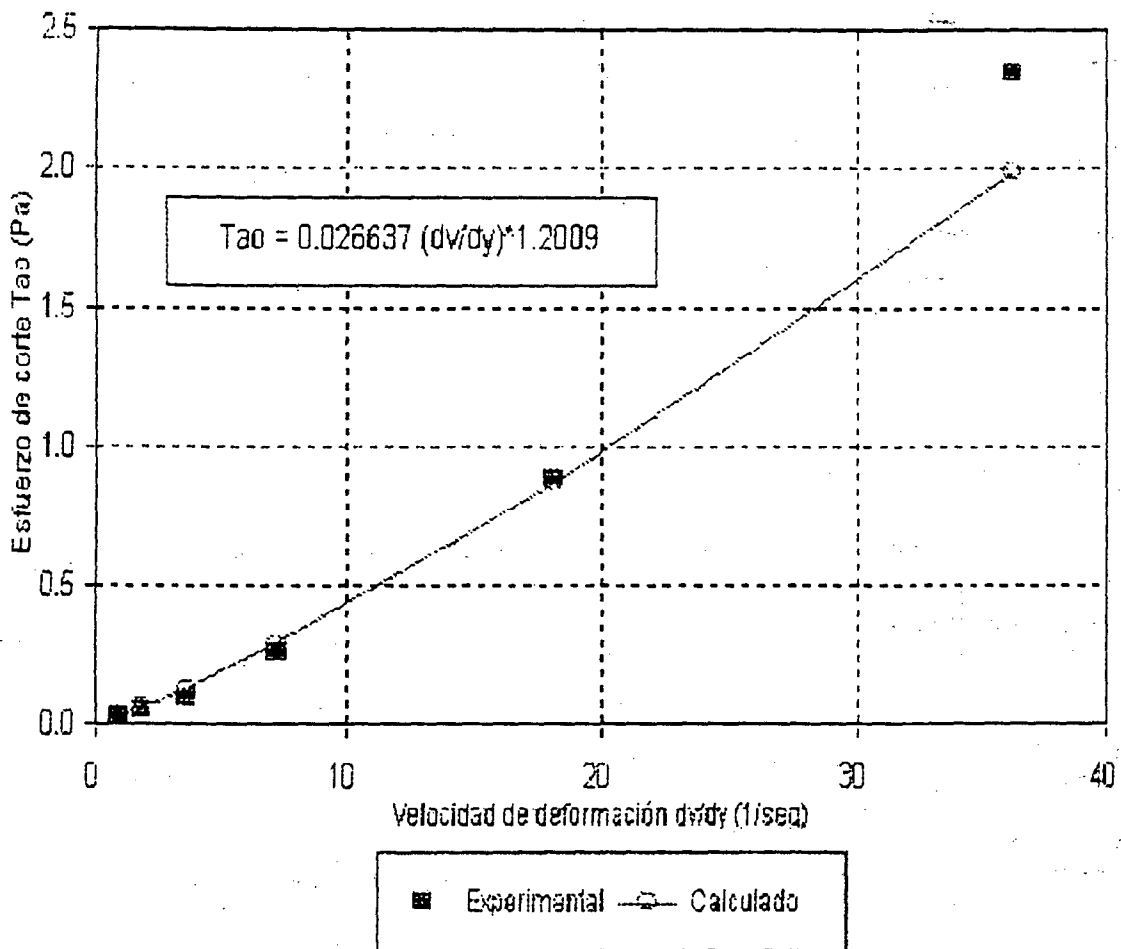


Figura 12. Reograma de la solución de Pectina Comercial.

En el cuadro 23 (Anexo 3), se pueden apreciar los datos para la solución de pectina de exudado de cacao, obtenidos con el viscosímetro Brookfield, a diferentes velocidades, utilizando el Spindle 1; de igual manera que en el caso anterior se determinó el valor de $n = 1.2296$. Los datos del cuadro 21 permitieron obtener el valor del índice de consistencia $m = 0.02607 \text{ Pa s}^n$.

CUADRO 21. Resultados de la prueba reológica de la solución de pectina del exudado a 25 °C (Viscosímetro Brookfield RV, $R_b = 56.26 \text{ mm.}$, $R_c = 81.45 \text{ mm.}$, $h = 61.12 \text{ mm.}$).

Tao (Pa)	dv/dy (1/s)	Ln(Tao)	Ln(dv/dy)	Tao Corregido
0.03215	0.9415	-3.43730	-0.06031	0.022907
0.04823	1.8829	-3.03183	0.63283	0.053717
0.09645	3.7659	-2.33868	1.32598	0.125968
0.23792	7.5318	-1.43582	2.01913	0.295400
0.96454	18.8294	-0.03610	2.93542	0.911425
2.60427	37.6588	0.95715	3.62857	2.137325

Con la obtención de los parámetros reológicos es posible definir la ecuación que gobierna el comportamiento del fluido en estudio, la cual se presenta a continuación:

$$TAO = 0.02467 \left(\frac{dv}{dy} \right)^{1.2286}$$

Con la ecuación anterior se cálculo el valor de TAO corregido, el reograma respectivo se presenta en la figura 13. En este reograma se puede apreciar el comportamiento dilatante de la solución de pectina del exudado.

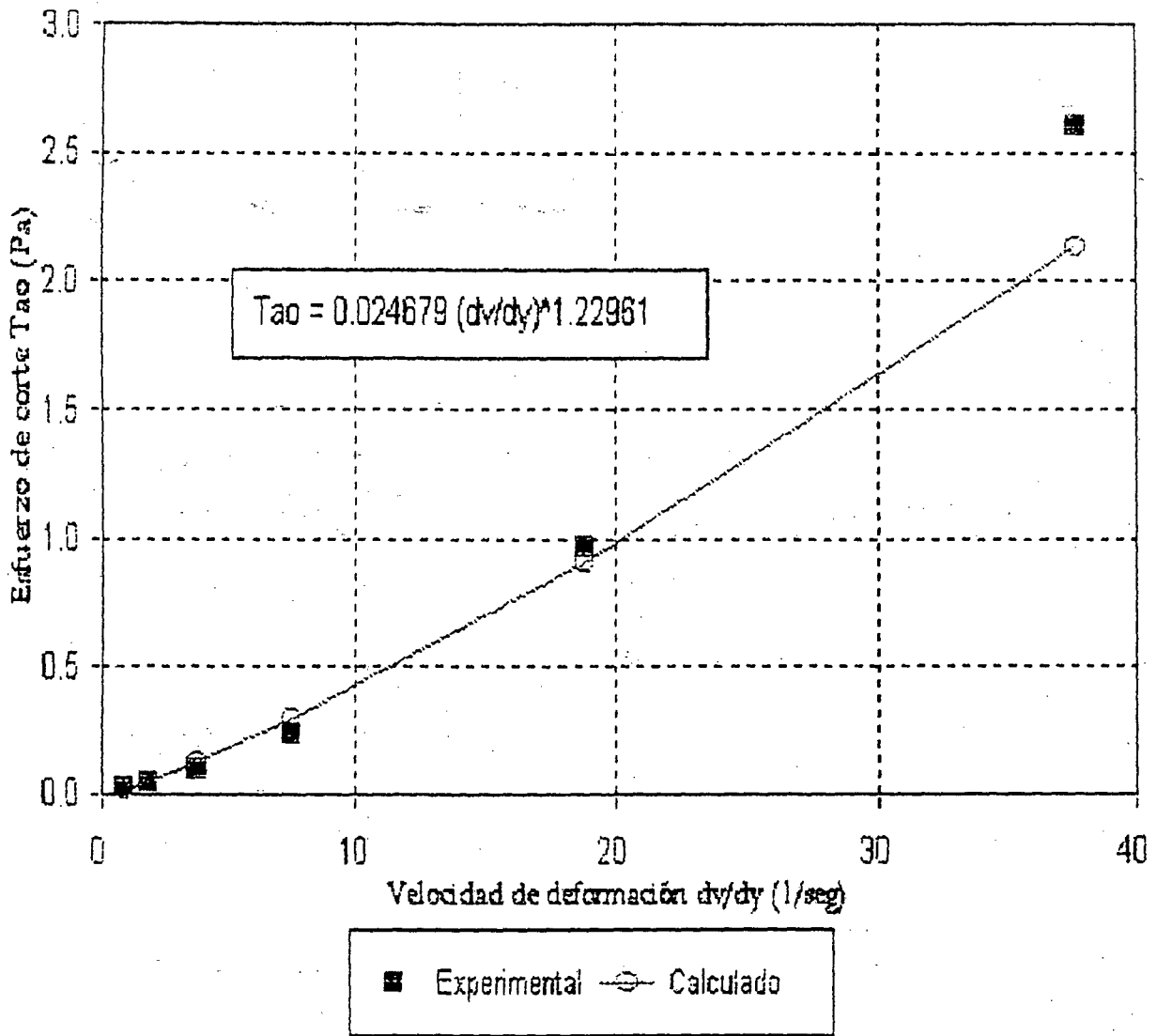


Figura 13. Reograma de la solución de Pectina del Exudado de cacao.

Analizando los índices reológicos obtenidos podemos decir de que las soluciones evaluados tienen un comportamiento dilatante (Shear_Thickening), ya que los valores de n , son mayores de 1 y menores que ∞ , lo que indica su comportamiento como fluido, existiendo otros ejemplos típicos como son algunos tipos de mieles, solución de almidón de maíz al 40 % (STEFFE, 1992).

V. CONCLUSIONES

Como conclusiones del presente trabajo de investigación se tiene:

1. Que de acuerdo a la evaluación de los índices de madurez se pudo establecer que el fruto del cacao con un color de cáscara amarillo, presentó un mayor porcentaje de pectina en el exudado, caracterizándose el fruto por tener un I.M. igual a 20.0 y 1.28 % de pectina como pectato de calcio.
2. Que el exudado de cacao posee un 82.6 % de humedad, 0.42 % de proteína, 0.13 de grasa, 0.29 de fibra, 0.42 % de ceniza, 16.14 % de carbohidratos. Además tiene una acidez titulable de 0.8 % como ácido cítrico, un pH de 3.6 y 16 °Brix.
3. Que el alcohol etílico resultó ser la mejor sustancia precipitante al ser utilizada en una concentración del 70 %, lograndose 1.24 % de pectina pura en promedio; descartandose el empleo de las sales de aluminio por producir pectinas con contenido de ceniza por encima del 6 %, límite máximo permitido por la F.A.O.
4. Que el flujograma óptimo para la obtención de pectina presentó las siguientes operaciones: Obtención del exudado (I.M. = 20.0, a 4 °C), Acondicionamiento del exudado (pH 1.9, 80 °C por 75 minutos), precipitación (alcohol al 70 %), filtración (tela tocuyo), purificación (4 lavados: 2 con

alcohol etílico absoluto acidificado (pH 6-6.5), un lavado con alcohol comercial y último con alcohol etílico absoluto), prensado manual 62.5 % de humedad (tela tocuyo), Secado (estufa a presión de vacío 0.8 kp/cm², 40 °C, 24 horas), 9.2 % de humedad, Molienda, Tamizado (tamiz ASTM de 250 μ), Envasado (bolsas de polietileno de 60 μ de espesor).

5. Que la pectina obtenida se caracterizó por tener un bajo porcentaje de metoxilo (6.32 %), un bajo porcentaje de esterificación (28.45 %), un contenido medio de ácido galacturónico (58.72 %), un peso equivalente de 496.90 % y una valoración de Acetil de 0.7 %, además un rendimiento de extracción de 96.88 % en base húmeda.

6. Que como resultado de la evaluación reológica de la solución de pectina del exudado, comparada con una solución de pectina comercial se comprobó que ambas soluciones se caracterizaron por ser fluidos dilatantes, presentando la solución de pectina en estudio una viscosidad aparente igual a 1.2296 Pa.s y un coeficiente de consistencia igual a 0.02467 Pa.sⁿ.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de rehidratación y empackado de la pectina obtenida.
2. Realizar estudios relacionados con el almacenamiento, del exudado de cacao.
3. Realizar estudios para la obtención de jarabes a partir del exudado de cacao utilizando pectinasa.
4. Realizar estudios relacionados con la conservación y concentración del exudado de cacao para su utilización como materia prima.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. 1949. Report the Committee for the Revision of the Nomenclature of the Pectin Substances. Chemical Eng. News 22: 105-108.
2. A.O.A.C. 1951. Official Methods of Analysis of the Association Official Agricultural Chemiste. 11 ed. Washington, EE.UJ.
3. A/S KOBENHAVNS PEKTINFABRIK. (1935?). Pectin. Ed. The Copenhagen pectin factory Ltd. Denmark.
4. BADUI. 1984. Química de los alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. México.
5. BRAVERMAN, J. 1960. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Omega. Barcelona, España.
6. CHEFTEL, J.; CHEFTEL, H. 1960. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos. Ed. Acriba. Zaragoza. España. Tomo II.
7. COMISSAO EXECUTVA DO PLANO DA LAVOURA CACAHUEIRA. 1964. Aproveitamento Integral dos Recursos da Empresa Cacahuira, Ilhéus BA, Brasil 46 p.
8. DANIEL, W.; W. Bioestadística. Base Para el Análisis de la Ciencia de la Salud. 5tª Edic. Edit. UTHEA. México.
9. DOESBURG, J. 1965. Pectin Substances in Fresh and Vegetables. Inst. for Research on Storage and Prossesing of Horticultural Produce. The Netherlands.
10. FERRO, L; CASTELBLANCO, H. 1969. Extracción y Caracterización de la Pectina de 2 Variedades de Guayaba. Revista. UNA, Lima.

11. FISHMAN, M, L. 1994. Chemistry and Functi of Pectins. Americana Chemical Society. EE.UU.
12. F.A.O. 1978. Especificaciones for Dentity and Purity of Trickenning Agents, Anticakin Agents, Antimicrocbials, Antioxidants and Emulsifiers. Roma.
13. FRANCIS, B.J.; BILL MARY. 1975. Comercial Pectin Tropical Products Institute. United States. 1975,
14. HUERTAS, R. 1990. Extracción de Pectina a Partir de Cáscara de Membrillo, por el Método de Precipitación con Sales. Tesis, UNA. La Molina, Lima - Perú.
15. GOPINATHAN, k.; NAKARAYA, K.; CHANNABASAPR, K and CHANDRA, H. 1975. Improvements in or Relating to the Manufacture of Liquid and Solid Pectin. Patente. Office 214. India.
16. GOTNER, H.; ALWAYS, W. 1976. Bioquímica. Edt. HASA. Euenos Aires - Argentina.
17. GUZMAN, R.; SUARES, A.J Y CASTRO, C. 1977. Determinación del Contenido de Pectina en Mangos y su Aplicación en la Elaboración de Mermeladas. Rev. Frutas Tropicales. Boletín Informativo N° 1. Bogotá, Colombia.
18. HERNANDEZ, T. 1986. EL Cultivo de Cacao. Rev. Pura Selva. Tingo María - Perú - Dic. (24): 25-28.
19. HURTADO, P.F. 1975. Copias del Curso de Procesos de Alimentos. UNA. La Molina. Lima- Perú.
20. ISIQUE, C., J. 1986. Extracción de Pectina a Partir de Desechos Industriales de Maracuyá. Tesis para Optar el Título de MSC. en Tecnología de Alimentos. UNA. La

Molina. Lima - Perú.

21. KERTEZ, Z.T. 1951. The Pectin Substances. Interscience Publishing. New York.
22. KIRK, R.; OTHMER, D. 1962. Enciclopedia de Tecnología Química. Tomo XI. Edt. UTEMA. México.
23. KRAMER, F. Y ROSENTHAL, H. 1965. Determination of Blocn of Gelatin in Solutions at Nonstandard Concentration. Rev. Food Technology.
24. MONTES, A. 1981. Bromatología. Edt. Universitaria. Buenos Aires - Argentina.
25. NELSON, F.F. 1977. Aplicaciones más Recientes de la Pectina en Alimentos, Productos Alimenticios. 6(3), pp 47-51. Chile.
26. NOSTI NOVA, J. 1973. Cacao, Café y Té. Barcelona, España. Ed. Salvat.
27. PAEZ, C.J. 1970. Lecciones de Cultivos Tropicales publicado por el Organo del Centro de Estadísticas de Agronomía. Lima - Perú.
28. PULGAR, C. 1986. Extracción de Pectina a Partir del Exudado de la Cáscara de Cacao. Tesis, UNAS. Tingo María - Perú.
29. RANGANNA. 1977. Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products. Mc Graw Hill Publishing Company Limited. New Oelhi.
30. ROMEAU, A.P. 1961. Producao de Destilados do Mel de Cacao. Informe Anual. Centro de Pesquisas do Cacao (CEPEC), Itabuna, Brasil, 340 p.

31. STEFFE, J.F. 1992. Rheological Methods in Food Procens Engineering. Edt. Freeman Press Michigan. USA. pp. 103-165.
32. WOOD, G.A. 1966. Cacac... S.F. México, CECSA. 354 P.
33. VELIZ, N. 1984: Extracción de Pectina del Níspero y su Caracterización. Tesis, UNA. La Molina. Lima-Perú.

ANEXO 1:

CALCULOS ESTADISTICOS REALIZADOS CON EL SOFTWARE SAS, APLICADO A LOS RESULTADOS DE LA OBTENCION DE PECTINA, UTILIZANDO ALCOHOL COMO SUSTANCIA PRECIPITANTE

ARREGLO FACTORIAL CON DBCA

OBS	BLOQUE	CONC	PH	RESP
1	1	1	1	0.74
2	1	1	2	0.56
3	1	1	3	0.93
4	1	2	1	1.49
5	1	2	2	0.93
6	1	2	3	1.30
7	1	3	1	1.49
8	1	3	2	0.93
9	1	3	3	1.68
10	2	1	1	0.56
11	2	1	2	0.56
12	2	1	3	0.93
13	2	2	1	0.56
14	2	2	2	0.56
15	2	2	3	0.74
16	2	3	1	0.56
17	2	3	2	0.56
18	2	3	3	0.93
19	3	1	1	0.74
20	3	1	2	0.74
21	3	1	3	1.12
22	3	2	1	0.93

23	3	2	2	0.74
24	3	2	3	1.12
25	3	3	1	0.74
26	3	3	2	0.74
27	3	3	3	1.12

ARREGLO FACTORIAL CON DECA
Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
BLOQUE	3	1 2 3
CONC	3	1 2 3
PH	3	1 2 3

Number of observations in data set = 27

ARREGLO FACTORIAL CON DECA
Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: RESP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1.93282222	0.19328222	4.63	0.0033
Error	16	0.66744444	0.04171528		
C. Total	26	2.60026667			

R-Square	C.V.	Root MSE	RESP Mean
0.743317	22.97736	0.204243	0.8866889

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
BLOQUE	2	0.92935556	0.46467778	11.14	0.0009
CONC	2	0.21706667	0.10854444	2.60	0.1051
PH	2	0.70615556	0.35307778	8.46	0.0031
CONC*PH	4	0.08022222	0.02005556	0.48	0.7495

ARREGLO FACTORIAL CON DECA

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041715

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2464

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping		Mean	N	BLOQUE
	A	1.1167	9	1
	A			
B	A	0.8878	9	3
B				
B		0.6622	9	2

ARREGLO FACTORIAL CON DECA

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041715

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2484

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	CONC
A	0.9722	9	3
A			
A	0.9300	9	2
A			
A	0.7644	9	1

ARREGLO FACTORIAL CON DECA
Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate,
but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041715

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2484

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	PH
A	1.0967	9	3
A			
B	0.8678	9	1
B			
B	0.7022	9	2

Level of Level of -----RESP-----
CONC PH N Mean SD

ANEXO 2:

CALCULOS ESTADISTICOS REALIZADOS CON EL SOFTWARE SAS, APLICADO A LOS RESULTADOS DE LA OBTENCION DE PECTINA, UTILIZANDO SULFATO DE ALUMINIO COMO SUSTANCIA PRECIPITANTE

ARREGLO FACTORIAL CON DBCA

OBS	BLOQUE	CONC	PH	RESP
1	1	1	1	0.00
2	1	1	2	0.00
3	1	1	3	0.00
4	1	2	1	0.00
5	1	2	2	0.00
6	1	2	3	0.00
7	1	3	1	1.49
8	1	3	2	1.49
9	1	3	3	1.49
10	2	1	1	0.00
11	2	1	2	0.00
12	2	1	3	0.00
13	2	2	1	0.00
14	2	2	2	0.00
15	2	2	3	0.00
16	2	3	1	0.74
17	2	3	2	0.74
18	2	3	3	1.12
19	3	1	1	0.00
20	3	1	2	0.00
21	3	1	3	0.00
22	3	2	1	0.00
23	3	2	2	0.00
24	3	2	3	0.00
25	3	3	1	0.56

1	1	3	0.66000000	0.10392305
1	2	3	0.62000000	0.10392305
1	3	3	0.99333333	0.10969655
2	1	3	0.99333333	0.46822359
2	2	3	0.74333333	0.18502252
2	3	3	1.05333333	0.28569042
3	1	3	0.93000000	0.49325450
3	2	3	0.74333333	0.18502252
3	3	3	1.24333333	0.38991452

26	3	3	2	0.74
27	3	3	3	1.12

ARREGLO FACTORIAL CON DBCA
Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
BLOQUE	3	1 2 3
CONC	3	1 2 3
PH	3	1 2 3

Number of observations in data set = 27

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: RESP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	7.12343704	0.71234370	17.10	0.0001
Error	16	0.66650370	0.04165648		
C.Total	26	7.78994074			

R-Square	C.V.	Root MSE	RESP Mean
0.914440	58.06826	0.204099	0.35148148

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
BLOQUE	2	0.28636296	0.14318148	3.44	0.0573
CONC	2	6.67111852	3.33555926	80.07	0.0001
PH	2	0.05531852	0.02765926	0.66	0.5284
CONC*PH	4	0.11063704	0.02765926	0.66	0.6261

ARREGLO FACTORIAL CON DBCA

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041656

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2483

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	BLOQUE
A	0.4967	9	1
A			
A	0.2689	9	2
A			
A	0.2689	9	3

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041656

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2483

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	CONC
A	1.0544	9	3
B	0.0000	9	2
B			
B	0.0000	9	1

Analysis of Variance Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: RESP

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 0.041656

Critical Value of Studentized Range= 3.649

Minimum Significant Difference= 0.2463

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	PH
A	0.4144	9	3
A			
A	0.3300	9	2
A			
A	0.3100	9	1

Level of CONC	Level of PH	N	-----RESP-----	
			Mean	SD
1	1	3	0.00000000	0.00000000
1	2	3	0.00000000	0.00000000
1	3	3	0.00000000	0.00000000
2	1	3	0.00000000	0.00000000
2	2	3	0.00000000	0.00000000
2	3	3	0.00000000	0.00000000
3	1	3	0.93000000	0.49325450
3	2	3	0.99000000	0.43301270
3	3	3	1.24333333	0.21361960

ANEXO 3:

CUADRO 22. Datos para determinar los parámetros reológicos de la pectina comercial (Viscosímetro Brookfield RV, Spindle 1).

RPM LECTURA	w rad/seg	M (Dinas .cm)	M (N-m)	Ln(M)	Ln(w)	
2.50	0.50	0.26180	35.9350	3.59E-06	-12.5364	-1.34017
5.00	0.75	0.52360	53.9025	5.39E-06	-12.1309	-0.64703
10.00	1.50	1.04720	107.8050	1.08e-05	-11.4378	0.04612
20.00	4.00	2.09440	287.4800	2.87e-05	-10.4569	0.73927
50.00	13.75	5.23600	988.2125	9.88e-05	-9.2222	1.65556
100.00	36.50	10.47200	2623.2550	2.62e-04	-8.2459	2.34871

CUADRO 23. Datos para determinar los parámetros reológicos de la pectina del exudado de cacao (Viscosímetro Brookfield RV, Spindle 1).

RPM LECTURA	w rad/seg	M (Dinas .cm)	M (N-m)	Ln(M)	Ln(w)	
2.50	0.50	0.26180	35.9350	3.59e-06	-12.5364	-1.34017
5.00	0.75	0.52360	53.9025	5.39e-06	-12.1309	-0.64703
10.00	1.50	1.04720	107.8050	1.08e-05	-11.4378	0.04612
20.00	3.70	2.09440	265.9190	2.66e-05	-10.5349	0.73927
50.00	15.00	5.23600	1078.0500	1.08e-04	-9.1352	1.65556
100.00	40.50	10.47200	2910.7350	2.91e-04	-8.1419	2.34871