

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE UNA BIOPELÍCULA
UTILIZANDO PECTINA EXTRAÍDA ENZIMÁTICAMENTE DE LA CÁSCARA DE
NARANJA VALENCIANA

NICOLÁS CHIRIVÍ TORRES
GISELLE JOHANA PALENCIA SUÁREZ

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2019

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE UNA BIOPELÍCULA
UTILIZANDO PECTINA EXTRAÍDA ENZIMÁTICAMENTE DE LA CÁSCARA DE
NARANJA VALENCIANA

NICOLÁS CHIRIVÍ TORRES
GISELLE JOHANA PALENCIA SUÁREZ

Proyecto Integral de Grado para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO

Directora:
Ingeniera Química
MARTHA ACOSTA

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2019

Nota de Aceptación

Dra. Adriana Inés Páez Morales

Ing. Juan Andrés Sandoval Herrera

Bogotá D.C., agosto 2019

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCIA-PEÑA

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Decano de la Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería Química

Dr. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

Primeramente, le dedico este trabajo a Dios, pues siempre ha sido mi más grande apoyo, mi guía y quien me ha brindado la fortaleza necesaria para culminar cada etapa de mi vida. De tal manera le dedico todo mi esfuerzo puesto en este trabajo a mis padres, por enseñarme a ser constante y persistente, a nunca rendirme y alcanzar lo que quiero, por acompañarme en cada paso, por guiarme desde el principio y por hacer parte de mi vida en todo momento, por apoyarme en cada una de las decisiones que he tomado a pesar de sus inconformidades y por demostrarme que, con amor, actitud y muchas ganas todo es posible. Así mismo agradezco a mi hermana, la mujer de mi vida, quien sin duda ha sido parte importante de este proceso, siempre dándome ánimos cada día, haciéndome reír con sus ocurrencias y sacándome el malgenio de vez en cuando, aun así, no hay palabras suficientes para agradecerles todo lo que han hecho por mí y nuestra familia.

A Jennifer que siempre estará en mi corazón, fue una de las razones que me impulso a elegir esta profesión, porque con ella siempre soñamos con llegar a este punto y con escribir estas palabras.

A Mafe, Jesika y Caro, por ser mis aliadas durante todo este camino, porque siempre han estado ahí a pesar de todo, porque con ustedes he aprendido a crecer en muchos aspectos, por ser mis mejores amigas y por cada loco recuerdo que me han regalado.

A ti, por cada aventura, cada consejo, por ser una de las personas más lindas que conozco, por apoyarme y hacer parte de mi vida, por acompañarme y darme tu amor incondicional. También le dedico este trabajo a Ed, Jaime y Esteban por ser los mejores amigos que la vida me ha puesto y porque siempre tuvieron palabras de aliento cuando las necesite.

Claramente se lo dedico a Johana, quien ha sido mi compañera a lo largo de los cinco años y quien se ha convertido en una gran amiga, porque durante el tiempo que nos ha llevado elaborar este trabajo, he aprendido mucho de ti y porque sin ti esto tampoco sería posible.

Finalmente, le agradezco enormemente a todas las personas que hicieron parte de mi camino, y que de una manera u otra me ayudaron a superar cada problema y asignatura, a todos mis amigos de la U, compañeros y profesores, a todos, infinitas gracias por permitirme culminar este logro.

Nicolás.

DEDICATORIA

En primer lugar, le dedico este trabajo a Dios. Él siempre ha sido mi motor, mi respaldo, mi más fiel aliado. En los momentos de debilidad y dificultad siempre ha sido mi refugio, JAMÁS me ha abandonado. Igualmente, le dedico todo el esfuerzo y dedicación que refleja este trabajo a mi mamá, la mujer más fuerte que conozco. Las palabras no me alcanzan para expresar todo el amor y la gratitud que te tengo, gran parte de lo que soy hoy en día es gracias a ti, esto es más tuyo que mío. Eres mi mayor ejemplo de lucha y dedicación, cuando me dicen que soy igualita a ti, yo solo espero llegar a ser tan fuerte, luchadora y echada para adelante como lo eres tú. Fabian, esto también es por y para ti, gracias por mostrarme junto a mi mamá el camino hacia la superación. A mi hermano Fabiancito, quien sin lugar a dudas es el amor de mi vida, para que con la culminación de esta etapa se dé cuenta que todo es posible, que se vale soñar en grande, porque con mucho esfuerzo, dedicación y humildad, ninguna meta es inalcanzable. Este hecho para grandes cosas, nunca lo olvides.

A mi papá, que de alguna u otra forma siempre ha estado a mi lado alentándome y haciéndome reír con sus ocurrencias en los días más oscuros. Gracias por siempre brindarme desde la distancia tu tiempo y un hombro para descansar. A mi Tita, Isa, Isabela, Sarita y “Ñeño”, por ser mi segunda familia y de mis más grandes respaldos. Gracias por confiar siempre en mí, por tanto, cariño recibido, por cada palabra de aliento y motivación. Isa, te admiro demasiado, cuando grande quiero ser como tú.

A la persona con la que he compartido los últimos cinco años de mi vida, mi Puchi, mi compañero de aventuras. Gracias por haber hecho de esta etapa una de las mejores, por ese amor tan grande e incondicional que me has brindado. Esto también es por ti, no solo porque nunca has dudado de mí, sino también porque con toda esa paciencia y nobleza que te identifica me ayudaste a sacar adelante materias como Ingeniería de materiales e Instrumentación. Siempre has estado a mi lado incondicionalmente, motivándome, respaldándome, consintiéndome y sobre todas las cosas enseñándome. Ha sido maravilloso crecer a tu lado.

Además, dedico esta culminación a Mau, Sebas, Zully, Nico y Lau por permitirme aprender más de la vida a su lado, gracias por ser no solo mis compañeros sino mis mejores amigos, he aprendido mucho de cada uno de ustedes, son excelentes personas. Gracias por acompañarme a lo largo de este camino y con su ejemplo motivarme siempre a persistir y nunca desistir. Pinky, ¡Lo logramos! Es hora de como tantas veces me dijiste conquistar el mundo. De igual modo, esto también va por ustedes Choco y Nico, gracias por su apoyo incondicional, por cada risa y momento compartido. Finalmente, a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos. ¡Mil gracias!

Johana.

AGRADECIMIENTOS

Con gran afecto, expresamos nuestra más sincera gratitud a quienes desde su labor y disposición pusieron de su parte para que esta investigación pudiera llevarse a cabo.

A la Ingeniera y directora de la investigación Martha Acosta, en primera instancia, por confiar en nosotros, para llevar el desarrollo de este trabajo. También, por la dedicación, el tiempo, apoyo, e interés puesto a lo largo de todo el proceso. De igual forma, a Germán Clavijo, quien soportó y apoyó desde sus conocimientos profesionales, para el desarrollo experimental del mismo.

A la Ingeniera Ana María García, pues siempre estuvo dispuesta a colaborar en lo que hiciera falta para que la parte experimental de este trabajo se realizara; la entrega a su trabajo es notoria y digna de admirar.

Mil gracias por todo.

CONTENIDO	pág.
INTRODUCCIÓN	26
OBJETIVOS	28
1. MARCO TEÓRICO	29
1.1 GENERALIDADES DE LA NARANJA	29
1.2 GENERALIDADES DE LAS PECTINAS	30
1.3 CLASIFICACIÓN DE LAS PECTINAS SEGÚN SU CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN	31
1.3.1 Pectinas con alto índice de metilación	31
1.3.2 Pectinas con bajo índice de metilación.	31
1.3.3 Pectinas amídicas.	32
1.4 CLASIFICACION DE LAS SUSTANCIAS PECTINAS	32
1.4.1 Protopectina.	32
1.4.1 Ácidos pectínicos.	32
1.4.3 Pectinas.	32
1.4.4 Ácidos pécticos.	32
1.5 GRADO DE ESTERIFICACIÓN (GE)	33
1.6 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LA PECTINA	33
1.6.1 Solubilidad.	33
1.6.2 Acidez.	33
1.6.3 Viscosidad.	33
1.6.4 Poder de gelificación de las pectinas.	34
1.6.5 Peso molecular.	34
1.6.6 Humedad.	34
1.7 ACCIÓN DE LAS ENZIMAS	34
1.8 HIDRÓLISIS ÁCIDA	37
1.9 GENERALIDADES DE LOS APÓSITOS MÉDICOS	38
1.10 GENERALIDADES DE LA BIOPELICULA	40
1.11 PROPIEDADES MECÁNICAS	41
1.11.1 Tensión en el Límite Proporcional.	42
1.11.2 Esfuerzo de Tracción en la Fluencia.	42
1.11.3 Resistencia Máxima.	42
1.11.4 Alargamiento en la Fluencia.	42
2. METODOLOGIA	43
2.1 OBTENCIÓN DE PECTINA	43
2.1.1 Pretratamiento.	43
2.1.1.1 Equipo.	44
2.1.2 Prueba de absorción.	45
2.1.3 Extracción química.	46
2.1.4 Extracción enzimática.	48
2.1.4.1 Equipo.	50

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS PECTINAS OBTENIDAS	50
2.2.1 Determinación del peso equivalente y acidez libre (AL).	50
2.2.2 Determinación del contenido de metoxilo (ME).	52
2.2.3 Determinación del porcentaje de rendimiento de la pectina.	53
2.2.4 Espectrometría infrarroja.	54
2.2.5 Determinación del porcentaje de humedad.	55
2.2.6 Determinación del porcentaje de cenizas	57
2.2.7 Determinación de la alcalinidad de cenizas.	58
2.2.8 Determinación del grado de esterificación (GE).	59
2.2.9 Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico.	61
2.2.10 Determinación de la viscosidad aparente.	62
2.2.10.1 Equipo	63
2.3 OBTENCIÓN DE LAS BIOPELICULAS	63
2.3.1 Síntesis de biopelícula.	64
2.3.1.1 Método A para la producción de biopelículas.	64
2.3.1.2 Método B para la producción de biopelículas	66
2.3.2 Caracterización de las biopelículas.	68
2.3.2.1 Brillo especular de películas plásticas según la ASTM 2457-03.	68
2.3.2.2 Poder de absorción de las biopelículas.	69
2.3.2.3 Propiedades de tensión de plásticos según la ASTM 638-14.	69
3.RESULTADOS	70
3.1 OBTENCIÓN DE PECTINA	70
3.1.1 Pretratamiento.	70
3.1.2 Prueba de absorción	72
3.1.3 Extracción química.	73
3.1.3.1 Balance de masa y energía.	76
3.1.4 Extracción enzimática.	80
3.1.4.1 Balance de masa y energía.	86
3.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS PECTINAS OBTENIDAS	90
3.2.1 Determinación del peso equivalente (PE) y la acidez libre (AL).	91
3.2.2 Determinación del porcentaje de metoxilo (ME).	92
3.2.3 Determinación del porcentaje de rendimiento de la pectina	93
3.2.4 Espectrometría infrarroja (IR)	95
3.2.5 Determinación del porcentaje de humedad.	97
3.2.6 Determinación del porcentaje de cenizas.	98
3.2.7 Determinación de la alcalinidad de cenizas.	99
3.2.8 Determinación del grado de esterificación (GE).	100
3.2.9 Determinación del ácido anhídrido galacturónico.	101
3.2.10 Determinación de la viscosidad aparente	102
3.3 OBTENCIÓN DE LAS BIOPELICULAS	104
3.3.1 Síntesis de las biopelículas.	104
3.3.1.1 Método A para la producción de biopelículas.	107
3.3.1.2 Método B para la producción de biopelículas.	108
3.3.2 Resultados de pruebas de caracterización	111

3.3.2.1 Brillo especular de películas plásticas según la ASTM 2457-03.	111
3.3.2.2 Poder de absorción de las biopelículas.	112
3.3.2.3 Propiedades de tensión de plásticos según la ASTM 638-14.	114
4.CONCLUSIONES	125
5.RECOMENDACIONES	127
BIBLIOGRAFIA	129
ANEXOS	143

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Escala de colores de la naranja valenciana	30
Figura 2. Estructura general de una pectina	30
Figura 3. Pectinas con alto índice de metilación	31
Figura 4. Pectinas con bajo índice de metilación	32
Figura 5. DF para la obtención de pectinas por el método químico	37
Figura 6. Gráfico de programa de temperatura	44
Figura 7. Izquierda: Naranja exprimida. Derecha: Etapa de despulpado	70
Figura 8. Lavado con Hipoclorito de la cáscara	71
Figura 9. Izquierda: Corte de la cáscara. Derecha: Secado de la cáscara	71
Figura 10. Molienda	72
Figura 11. Resultados prueba de absorción t= 0-24 horas respectivamente	72
Figura 12. Pectina Húmeda extraída químicamente	74
Figura 13. Pectina obtenida químicamente después de secado en el horno de secado	74
Figura 14. Resultados ensayos preliminares en términos de pectina extraída	84
Figura 15. Pectina Húmeda extraída enzimáticamente	85
Figura 16. Comportamiento de la amilosa y amilopectina tras la gelatinización	106
Figura 17. Biopelícula CP y SP respectivamente tras la prueba de T	113
Figura 18. Probeta tipo IV	115
Figura 19. Probetas de biopelícula con y sin pectina respectivamente	116
Figura 20. Izquierda: Instalación de la Probeta. Derecha: Probeta ensayada	116
Figura 21. Izquierda: Probeta antes del ensayo. Derecha: Probeta ensayada	117
Figura 22. Comportamiento gráfico de los materiales	122

Figura 23. Izquierda: Fractura frágil teórica. Derecha: Fractura frágil real

123

LISTA DE DIAGRAMAS

	pág.
Diagrama 1. Proceso de pre tratamiento	44
Diagrama 2. Prueba de absorción	46
Diagrama 3. Proceso de hidrólisis química	48
Diagrama 4. Proceso de extracción enzimática	49
Diagrama 6. Diagrama determinación del peso equivalente y acidez libre	52
Diagrama 7. Determinación del contenido de metoxilo	53
Diagrama 8. Determinación del rendimiento	54
Diagrama 9. Determinación el porcentaje de Humedad	56
Diagrama 10. Determinación del porcentaje de cenizas	57
Diagrama 11. Determinación de alcalinidad de cenizas	59
Diagrama 12. Determinación del grado de esterificación	61
Diagrama 13. Determinación de la viscosidad aparente	63
Diagrama 17. Elaboración de una biopelícula utilizando el método A	66
Diagrama 18. Elaboración de una biopelícula utilizando el método B	68
Diagrama 14. Espectrofotometría IR teórica para pectinas	95
Diagrama 15. Espectrofotometría IR de pectina extraída químicamente	96
Diagrama 16. Espectrofotometría IR de pectina extraída enzimáticamente	96

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Determinación del peso equivalente	51
Ecuación 2. Determinación de la acidez libre	51
Ecuación 3. Determinación de porcentaje de metoxilo	53
Ecuación 4. Determinación del porcentaje de rendimiento	54
Ecuación 5. Determinación del porcentaje de humedad	56
Ecuación 6. % cenizas base seca	58
Ecuación 7. Determinación de la AC	59
Ecuación 8. Determinación del porcentaje de grado de esterificación	60
Ecuación 9. Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico	62
Ecuación 10. Energía suministrada por la estufa	76
Ecuación 11. Energía de la cáscara de naranja	77
Ecuación 12. Energía de requerida para el calentamiento del agua	77
Ecuación 13. Energía de requerida para el HCL	77
Ecuación 14. Calor disipado durante el proceso	78
Ecuación 15. Volumen requerido para la cáscara de naranja	78
Ecuación 16. Volumen requerido el agua	79
Ecuación 17. Volumen requerido de ácido clorhídrico	79
Ecuación 18. Volumen total requerido	79
Ecuación 19. Concentración de enzima empleada en el artículo guía	83
Ecuación 20. Energía suministrada por la estufa	86
Ecuación 21. Energía de la cáscara de naranja	87
Ecuación 22. Energía de requerida para el calentamiento del agua	87

Ecuación 23. Energía de requerida para el CaCO_3	88
Ecuación 24. Calor disipado durante el proceso	88
Ecuación 25. Volumen requerido para la cáscara de naranja	89
Ecuación 26. Volumen requerido el agua	89
Ecuación 27. Volumen requerido de carbonato de calcio	89
Ecuación 28. Volumen total requerido	90
Ecuación 29. Promedio del PE para la pectina extraída químicamente	92
Ecuación 30. Promedio del PE para la pectina extraída enzimáticamente	92
Ecuación 31. Promedio de la AL para la pectina extraída químicamente	92
Ecuación 32. Promedio de la AL para la pectina extraída químicamente	92
Ecuación 33. Promedio para el PM para la pectina extraída químicamente	93
Ecuación 34. Promedio para el PM para la pectina extraída enzimáticamente	93
Ecuación 35. Determinación del PR de la pectina extraída químicamente	95
Ecuación 36. Determinación del PR de la pectina extraída enzimáticamente	95
Ecuación 37. Porcentaje de humedad de la pectina extraída químicamente	98
Ecuación 38. Porcentaje de Humedad de la pectina extraída enzimáticamente	98
Ecuación 39. Determinación del PC para la pectina extraída químicamente	99
Ecuación 40. Determinación del PC para la pectina extraída enzimáticamente	99
Ecuación 41. Determinación de AC para la pectina extraída químicamente	99
Ecuación 42. Determinación de AC para la pectina extraída enzimáticamente	100
Ecuación 43. Promedio para el GE de la pectina extraída químicamente	100
Ecuación 44. Promedio para el GE de la pectina extraída enzimáticamente	101
Ecuación 45. Promedio para el AAG de la pectina extraída químicamente	102

Ecuación 46. Promedio el AAG de la pectina extraída enzimáticamente	102
Ecuación 47. Ecuación exponencial de la pectina extraída químicamente	103
Ecuación 48. Ecuación exponencial de la pectina extraída enzimáticamente	103

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Formulación de compuestos Método A	64
Tabla 2. Formulación de compuestos Método B sin pectina	66
Tabla 3. Formulación de compuestos Método B con pectina enzimática	67
Tabla 4. Resultados prueba de absorción	73
Tabla 5. Resultados ensayo previo blanco de reacción	81
Tabla 6. Resultados ensayo previo a concentración de 200 ppm	82
Tabla 7. Resultados ensayo previo a una concentración de 500 ppm	82
Tabla 8. Resumen resultados ensayos previo	82
Tabla 9. Resumen resultados de la caracterización de las pectinas extraídas	90
Tabla 10. Resultados teóricos del % de Pectina para varios frutos	93
Tabla 11. Resultados prueba de brillo	111
Tabla 12. Resultados prueba de absorción de las biopelículas estudiadas	113
Tabla 13. Resultados de propiedades de tensión de biopelículas	117

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Comportamiento de tensión-deformación para plásticos	41
Gráfica 2. Condiciones de pH que favorecen la actividad enzimática	80
Gráfica 3. Condiciones de T que favorecen la actividad enzimática	81
Gráfica 4. Resultados experimentales de los ensayos preliminares	84
Gráfica 5. Perfil de viscosidad aparente	102
Gráfica 6. Comportamiento del material SP en función del desplazamiento	120
Gráfica 7. Comportamiento del material CP en función del desplazamiento	121

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Características principales de la naranja valenciana	29
Cuadro 2. Microorganismos utilizados para la extracción de pectina	35
Cuadro 3. Etapas del proceso de hidrólisis ácida	38
Cuadro 4. Características de apósitos según la Farmacopea Europea	39
Cuadro 5. Etapas del proceso utilizado para la extracción química de pectina	47
Cuadro 6. Ensayos previos a la estandarización	75
Cuadro 7. Resultados síntesis de biopelícula Método A	107
Cuadro 8. Resultados síntesis de biopelícula Método B sin pectina	109
Cuadro 9. Resultados síntesis de biopelícula Método B con pectina	110
Cuadro 10. Dimensiones probeta tipo IV	115

LISTA DE ABREVIATURAS

AAG = Ácido anhídrido galacturónico

AC = Alcalinidad de Cenizas

AL= Acidez libre

CP= Con pectina

DE= Desviación estándar

Fórm. = Formulación

GE= Grado de esterificación

IR = Infrarrojo

Máx = Máximo

MP= Materia prima

PC = Porcentaje de Cenizas

PE= Peso Equivalente

PM = Porcentaje de metoxilación

PR = Porcentaje de Rendimiento

SP= Sin pectina

TPS= Termoplástico de almidón

GLOSARIO

ABSORCIÓN: atracción desarrollada por un sólido sobre un líquido con la intención de que las moléculas de éste logren penetrar en su sustancia¹.

ÁCIDO GALACTURÓNICO: monosacárido, es un azúcar ácido y es el principal componente de la pectina².

ÁCIDO POLIGALACTURÓNICO: las pectinas están formadas fundamentalmente por largas cadenas formadas por ácido galacturónico, que puede encontrarse como tal ácido, con el grupo carboxil libre o bien con el carboxil esterificado por metanol (metoxilado)³.

ALBEDO: se conoce como mesocarpio o albedo, es un material blanco, esponjoso y grueso, parecido al algodón el cual está sujeto la pulpa de los cítricos y está compuesto por una gran cantidad de células parenquimatosas, que brindan soporte⁴.

ALCALINIDAD: alude a lo alcalino, es decir que tiene el hidroxilo metálico llamado álcali⁵.

ALMIDÓN: se trata de un polisacárido: un hidrato de carbono que se compone de una cadena extensa de monosacáridos. El almidón está considerado como una macromolécula ya que es una molécula de tamaño grande. En este caso, está formado por amilopectina y amilasa⁶.

BIOPELÍCULA: son películas flexibles que pueden ser preparadas a partir de macromoléculas biológicas capaces de formar una matriz continua⁷.

DEFORMACIÓN: relación de la elongación a la longitud original ($\Delta l/l$). Se expresa como una relación adimensional⁸.

¹ DEFINICION.DE [sitio web]. DEFINICION.DE, definición de absorción. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/absorcion/>

² ACEVEDO, Vanesa., RAMIREZ, Diana. Análisis técnico y económico de la pectina, partir de la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis*) [en línea]. Trabajo de grado para optar el título de Ingeniera Agroindustrial. Universidad de San Buenaventura Cali, 2011 [Consultado 19 mayo 2019]. Disponible en: http://bibliotecadigital.usb.edu.co:8080/bitstream/10819/1336/1/An%C3%A1lisis_Econ%C3%B3mico_Naranja_Acevedo_2011.pdf. p. 12.

³ *Ibíd.*, p. 12.

⁴ *Ibíd.*, p. 12.

⁵ DEFINICION.DE. [sitio web]. DEFINICION.DE, definición de alcalinidad. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/alcalinidad/>.

⁶ DEFINICION.DE. [sitio web]. DEFINICION.DE, definición de almidón. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/almidon>.

⁷ GONTARD, Nathalie, GUILBERT, Stéphane. Bio-packaging technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin [en línea]. 1996. 15(1). [consultado 19 mayo 2019]. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR19970042167>. p. 5.

⁸ PETROTUYO. [sitio web]. PETROTUYO, Propiedades Mecánicas: [consulta: 12 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.petrocuyo.com/es/tecnologia/el-polipropileno/propiedades-mecanicas>.

ELONGACIÓN: incremento de la longitud de una probeta de ensayo producido por una tensión de carga⁹.

ENZIMA: es una proteína que cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo. Las enzimas actúan sobre las moléculas conocidas como sustratos y permiten el desarrollo de los diversos procesos celulares¹⁰.

ESTERIFICACIÓN: es el procedimiento mediante el cual se llega a sintetizar un éster. Los ésteres se producen de la reacción que tiene lugar entre los ácidos carboxílicos y los alcoholes¹¹.

GELIFICACIÓN: es el procedimiento mediante el cual se espesan y estabilizan soluciones líquidas, emulsiones y suspensiones¹².

HETEROPOLISACÁRIDO: están compuestos por la repetición ordenada de un disacárido formado por dos monosacáridos distintos (o, por lo que es lo mismo, por la alternancia de dos monosacáridos), se trata esencialmente de componentes estructurales de los tejidos, relacionados con paredes celulares y matrices extracelulares¹³.

NARANJA: fruta cítrica comestible del género Citrus, se encuentran cultivadas en cualquier continente, siempre que tengan abundancia de sol, agua y poca humedad ambiental¹⁴.

METOXILO: en función del porcentaje de restos de ácido galacturónico esterificado, las pectinas se clasifican como "de alto metoxilo", cuando este porcentaje es superior al 50%, y "de bajo metoxilo", cuando es inferior¹⁵.

PECTINA: La pectina es el principal componente enlazante de la pared celular de los vegetales y frutas. Químicamente, es un polisacárido compuesto de una cadena lineal de moléculas de ácido D-galacturónico, las que unidas constituyen el ácido poligalacturónico¹⁶.

⁹ Ibid., párr. 6.

¹⁰ DEFINICION.DE. [sitio web]. DEFINICION.DE, definición de enzima. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/enzima/>.

¹¹ LA GUÍA QUÍMICA [sitio web]. LA GUÍA QUÍMICA, definición de esterificación. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/esterificacion>.

¹² GOOGLE SITES [sitio web]. GOOGLE SITES, definición de gelificación. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/cocina4ingenieros/ciencia-y-tecnologia/tecnicas/gelificacin>

¹³ ACEVEDO. Op. cit., p.13.

¹⁴ ACEVEDO. Op. cit., p.13.

¹⁵ CALVO, Miguel. En: Milk science [sitio web]. Zaragoza: Milk science. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/historia.pdf>. Archivo PDF. p.25.

¹⁶ FOOD-INFO [sitio web]. FOOD-INFO, definición de pectina. [Consulta: 19 mayo 2019] Disponible en: <http://www.food-info.net/es/qa/qa-wi6.htm>.

PLASTIFICANTE: un plastificante es una sustancia que cuando se añade a un material, normalmente a un plástico, da como resultado un producto flexible, resistente y más fácil de manejar¹⁷.

POLÍMERO: son materiales de origen tanto natural como sintético, formados por moléculas de gran tamaño, conocidas como macromoléculas. Polímeros de origen natural son: la celulosa y las proteínas¹⁸.

PROTOPECTINA: es el nombre que le ha dado a las sustancias pépticas insolubles que se encuentran en los tejidos vegetales inmaduros. Los grupos carboxilo de la mayoría de los residuos de ácido galacturónico de la protopectina se encuentran esterificados con radicales metilos a lo largo de toda la cadena, aunque la composición química exacta de esta se desconoce¹⁹.

RENDIMIENTO: se le llama rendimiento químico a la relación entre la cantidad de producto obtenido realmente en la reacción y la cantidad máxima de producto que se podría haber obtenido si los reactivos se hubieran consumido completamente²⁰.

TENSIÓN: Fuerza aplicada para producir deformación en un área unitaria de una probeta de ensayo. Es la relación de carga aplicada al área de sección transversal original²¹.

VISCOSIDAD: es la resistencia que tienen las moléculas que conforman un líquido para separarse unas de otras, es decir, es la oposición de un fluido a deformarse y esta oposición es debida a las fuerzas de adherencia que tienen unas moléculas de un líquido o fluido con respecto a las otras moléculas del mismo líquido²².

¹⁷ GREEN FACTS [sitio web]. GREEN FACTS, definición de plastificante. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.greenfacts.org/es/glosario/pqrs/plastificante.html>

¹⁸ ACEVEDO. Op. cit., p.13.

¹⁹ ACEVEDO. Op. cit., p.13.

²⁰ LA GUÍA QUÍMICA [sitio web]. LA GUÍA QUÍMICA, definición de rendimiento. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/rendimiento>.

²¹ PETROTUYO. Op. cit. párr. 4.

²² CONCEPTODEFINICION.DE [sitio web]. CONCEPTODEFINICION.DE, definición de viscosidad. [Consulta: 19 mayo 2019] Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/viscosidad/>

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el proceso de extracción de pectina de la cáscara de naranja valenciana, utilizando la enzima endo-poligalacturonasa producida por *Aspergillus niger*, como alternativa al proceso de hidrólisis ácida, para su posterior aplicación en la formulación de una biopelícula. Con el objetivo de evidenciar las diferencias entre los dos métodos de extracción, se empleó en ambos casos como materia prima, cáscara de naranja valenciana seca y molida, con un tamaño de partícula de 250 μm , así mismo, se realizó precipitación, empleando etanol al 70% y se secó a temperatura ambiente.

El proceso de extracción mediante hidrólisis ácida, se desarrolló a 80°C, pH entre 1,5 – 3 y agitación constante, durante un tiempo de 35 minutos. El proceso de extracción enzimática, se llevó a cabo a una concentración de enzima de 200 ppm, 40°C, pH: 5,5 y agitación constante, por un período de 7 horas. Se registró una diferencia de rendimientos entre los métodos de extracción de 5,32%.

Posteriormente, se realizó una caracterización comparativa, mediante la cual se evaluaron propiedades fisicoquímicas de las pectinas, tales como: peso equivalente, acidez libre, contenido de metoxilación, porcentaje de humedad, porcentaje de cenizas y su alcalinidad, grado de esterificación, porcentaje de ácido anhídrido galacturónico y viscosidad aparente. Adicionalmente, se realizó espectrofotometría de infrarrojo y recuento microbiano. Se logró establecer que, independientemente del método empleado para la extracción, se obtiene una pectina con características similares, presentando diferencias poco significativas, dentro de las cuales se destacan: el bajo índice de metoxilación con una diferencia de 1,24%, que indica un bajo poder de gelificación. Además, ambas pectinas presentan un grado de esterificación superior al 80%, hecho que, permite confirmar la baja velocidad de gelificación de las mismas, así como también, una baja viscosidad.

Seguidamente, se desarrollaron formulaciones para la elaboración de dos biopelículas, la primera con ausencia de pectina y la segunda con presencia de la misma, empleando como materia prima cáscara de naranja valenciana seca y molida, con tamaño de partícula de 149 μm , almidón de yuca, glicerina, pectina obtenida enzimáticamente, carbonato de sodio y agua. El proceso de síntesis, se llevó a temperaturas inferiores a los 60°C con agitación constante, posteriormente fueron llevadas a moldes de acrílico y se secaron en horno a 37°C durante 5 días. Finalmente, se evaluaron las propiedades mecánicas del material obtenido, mediante las normas ASTM 2457-03 para la determinación especular de películas plásticas, la ASTM 638-14 para las propiedades de tensión de plásticos y la NTC 1772 para la determinación del poder de absorción de las biopelículas. Se concluyó que, la adición de pectina no tiene mayor efecto en las características mecánicas del material, pero si incrementa la capacidad de absorción en un 37,9%.

Palabras clave: Naranja, pectina, biopelícula, enzima.

INTRODUCCIÓN

La naranja en Colombia, según el DANE, en el boletín mensual de insumos y factores asociados a la producción agropecuaria, es una de las frutas con mayor rendimiento en toneladas por hectárea cosechada anualmente. En el 2015 se obtuvo 15,2% de rendimiento, lo que generó 497.226 toneladas de fruta²³. Adicionalmente, la fruta no ha sido usada para la elaboración de productos a nivel industrial, sus usos se limitan a la producción de jugos, aditivos alimenticios y aromatizantes, pero se ignora el potencial químico presente en su composición natural.

En Colombia, el mercado y producción de pectina es un campo poco explorado, esto ligado a los costos de producción, los cuales, en la mayoría de métodos son difíciles de financiar, debido al elevado precio de los suministros que son empleados para su extracción, a partir de diversas materias primas. Actualmente, se desarrollan numerosos métodos para la obtención de la pectina, los cuales afectan de manera directa la calidad del producto final, limitando los usos de este²⁴.

A nivel industrial, se obtiene pectina mediante métodos que involucran reactivos altamente contaminantes como ácido sulfúrico y ácido nítrico, los cuales en la mayoría de los procesos dejan trazas dentro del producto final, limitando sus usos y restringiendo la utilidad. Al presente, se emplean mecanismos de extracción con altos rendimientos. Sin embargo, estos incrementan la contaminación de recursos como el agua, impidiendo su tratamiento o reutilización.

Adicionalmente, se han realizado estudios que buscan mejorar el rendimiento de extracción mediante procesos sustentables y ecológicos, basándose en las buenas prácticas científicas²⁵, con la finalidad de promover el mercado de pectina nacional y su uso como un insumo industrial seguro y efectivo.

Existen investigaciones sobre el desarrollo de procesos alternativos, como los procesos asistidos por actividad enzimática, exposición a ultrasonido, microondas y extracción de agua subcrítica (Ridwan L. Ademola A, Orsat V, Raghavan V, 2017), entre otros. Diversos estudios se han realizado a partir de dichos métodos, generando cambios en las variables del proceso, obteniendo resultados comparativos entre cada uno, generando información para el mejoramiento en el rendimiento de extracción, de tal manera que se empleen menos recursos químicos y promuevan la producción de pectina de alta calidad y pureza.

²³ DANE. El cultivo de la naranja valenciana (*Citrus sinensis* [L.] Obsbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. En: DANE. [sitio web]. Bogotá: DANE. [consulta: 22 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Insumos_oct_2016.pdf. p. 15.

²⁴ ACEVEDO. Op. cit., p.5.

²⁵ MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN. Código de Buenas Prácticas científicas y comité de Integridad de la Investigación. En: Instituto de salud Carlos III [sitio web]. Madrid: Instituto de salud Carlos III. [consulta en: 05 de Julio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-organizacion/fd-comites/CodigoPracticasCientificas.pdf>. p.1.

La producción de pectina en Colombia se ve favorecida dentro del territorio nacional puesto que existen múltiples fuentes las cuales en su mayoría son catalogados como desechos agroindustriales provenientes de diversas zonas del país, lo cual repercute en un desaprovechamiento de materia prima con alto potencial de incursión en el mercado de pectina, gracias a su alto contenido de este componente²⁶. Es por tal motivo, que se desea presentar el desarrollo de una nueva vía de extracción de pectina a partir de cáscaras de naranja valenciana, utilizando la enzima endo-poligalacturonasa²⁷, de tal manera que sea un primer acercamiento a la síntesis de una biopelícula con un alto poder de absorción, la cual será el paso inicial hacia la formulación de un producto nuevo e innovador.

Por otro lado, uno de los productos médicos con mayor impacto comercial son los apósitos para heridas, cuyo principal propósito es proteger las zonas lesionadas, proporcionando alivio al dolor, actuando además como una barrera capaz de absorber los exudados; dichas características son otorgadas por diferentes compuestos, en su mayoría de origen inorgánico los cuales son costosos y difíciles de obtener ²⁸.

Actualmente, se desarrollan apósitos con base de nitro-celulosa, los cuales poseen en su estructura interna diversas sustancias químicas, capaces de absorber los exudados producidos por las heridas. Además, estos cuentan con metales preciosos como plata, entre otros. El uso de este tipo de aditivos, está altamente regulado para el uso en productos fármacos, por lo que su rentabilidad y producción son limitadas²⁹.

²⁶ DANE. Op. cit., p.5.

²⁷ CONTRERAS, J., BANDA, L., MONTAÑÉZ, J. Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. En: Research gate [sitio web]. Coahuila (Saltillo, Coahuila, & México). [consulta: 08 septiembre 2018]. Archivo PDF. Disponible en: https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_I/CARTEL/CI-9.pdf. p. 2

²⁸ SHAHZAD, K., HARDING, J. Advanced textiles for wound care [en línea]. 2da ed. USA: Woodhead Publishing, 2019. [citado el 12 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/advanced-textiles-for-wound-care/rajendran/978-0-08-102192-7>. p. 445.

²⁹ BAILEY, J.K., SAMMET, S., OVEROCKER, J., CRAFT-COFFMAN, B., ACEVEDO, CM., COWAN, ME., & POWELL, HM. MRI compatibility of silver based wound dressings [en línea]. 2018. 44(8). [Consultado 13 septiembre 2018]. DOI:10.1016/j.burns.2018.05.017.p. 1944.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el proceso de obtención de una biopelícula utilizando pectina extraída enzimáticamente de la cáscara de naranja valenciana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer pectina de la cáscara de naranja valenciana mediante el proceso asistido por la enzima endo-poligalacturonasa (*Aspergillus niger*).
- Comparar los resultados obtenidos para la extracción de la pectina mediante el método enzimático propuesto, con los establecidos para el método químico convencional.
- Desarrollar una biopelícula a partir de la pectina obtenida mediante procedimientos establecidos por el Tecnoparque del SENA.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES DE LA NARANJA

La naranja dulce pertenece a la familia *Citrus sinensis*, la cual se caracteriza por contener altos niveles de ácido cítrico que le proporcionan el sabor ácido a la fruta. Esta variedad es la más demandada en el mundo y la más cultivada en el país con 32.610 hectáreas que produjeron para el año 2015 cerca de medio millón de toneladas. Esta variedad de naranja necesita para su desarrollo altos niveles de fósforo y de potasio, una temperatura aproximada entre 23 y 34 °C y entre 900 a 1200 milímetros de lluvia anual. La naranja valenciana presenta las siguientes características³⁰:

Cuadro 1.. Características principales de la naranja valenciana

Característica	Valores
Peso fruto	162, 21g-195,32g
Diámetro fruto	22,34 mm -24,12 mm
Grados de color	Ver figura 1
Grosor cascara	3,19mm-3,37mm
Concentración sólidos totales	9,85 °Brix

Fuente: DANE. El cultivo de la naranja valenciana (*Citrus sinensis* [L.] Obsbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. En: DANE. [sitio web]. Bogotá: DANE. [consulta: 22 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2016.pdf

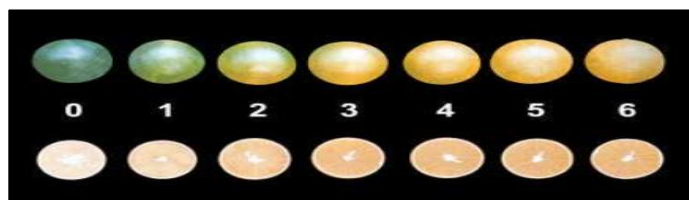
En el estado verde de distintos frutos, incluyendo la naranja, son predominantes las protopectinas, estas durante el proceso de maduración se rompen por hidrólisis o por la acción de enzimas pectinolíticas produciendo pectinas solubles en agua, lo que puede disminuir su contenido en el fruto y conlleva cambios en las propiedades fisicoquímicas induciendo el ablandamiento típico³¹. Lo anterior indica que, generalmente las naranjas verdes, contienen mayor cantidad de pectinas y por lo tanto se logra un mayor rendimiento³². Los estados de maduración se ven clasificados de acuerdo a su coloración en niveles del 0-6, tal y como se observa en la figura 1.

³⁰ DANE.Op. cit., p.1

³¹ PAREDES, Jorge., HERNÁNDEZ, Roxana., CAÑIZARES, Adolfo. Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cascos de guayaba (*Psidium guajava* L.) [en línea] 2015, 33(3) [consultado: 05 Julio 2019]. p. 36.

³² DEVIA, Jorge. Proceso para producir pectinas cítricas. [en línea]. 2003. 39(129). Rev U. EAFIT. [consultado 15 de marzo 2019]. Disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/918/823> p. 23.

Figura 1. Escala de colores de la naranja valenciana

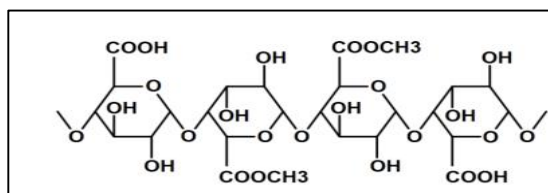


Fuente: DANE. El cultivo de la naranja valenciana (*Citrus sinensis* [L.] Obsbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. En: DANE. [sitio web]. Bogotá: DANE. [consulta: 22 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agrop/ecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2016.pdf

1.2 GENERALIDADES DE LAS PECTINAS

Las pectinas son heteropolisacáridos provenientes del ácido poligalacturónico, en el que sus unidades están encadenadas mediante enlaces glicosídicos (α 1-4). Estos compuestos están presentes en las paredes celulares primarias de muchas plantas, frecuentemente asociados con otros componentes de la pared celular, tales como la celulosa, hemicelulosa y la lignina³³.

Figura 2. Estructura general de una pectina



Fuente: CAYÓN, Gerardo., VALENCIA, Jorge., MORALES Humberto., DOMÍNGUEZ, Argemiro. Desarrollo y producción del plátano Dominico Hartón (*Musa AAB Simmonds*) en diferentes densidades y arreglos de siembra. [en línea], 2004 *Agronomía Colombiana*, 22(1). [Consultado 21 mayo 2019].

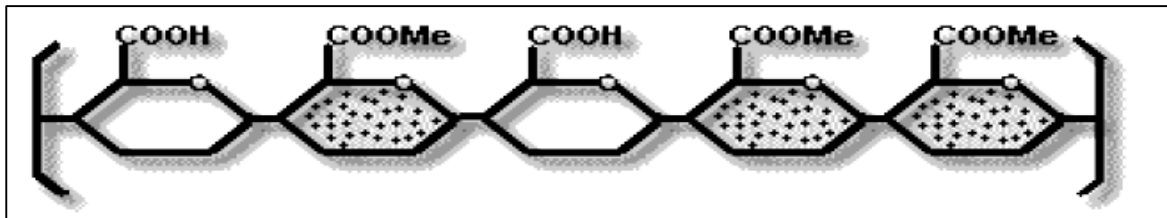
³³ STEPHEN, Alistair, PHILLIPS, Glyn, WILIAMS, Peater. *Food Polysaccharides and their applications* [en línea]. 2da ed. Londres: Taylor & Francis, 2006. [citado el 10 septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.crcpress.com/Food-Polysaccharides-and-Their-Applications/Stephen-Phillips/p/book/9780824759223>. p. 733.

1.3 CLASIFICACIÓN DE LAS PECTINAS SEGÚN SU CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN

Según su capacidad de gelificación, la cual está asociada al grado de metilación las pectinas se dividen en tres grupos:

1.3.1 Pectinas con alto índice de metilación. Este tipo de pectinas posee más del 50% de unidades del ácido poligalacturónico, por lo que son poco reactivas con el ion calcio, es decir, son aquellas en las cuales más del 50% de los grupos carboxilos del ácido galacturónico del polímero se encuentra esterificado con metanol³⁴ como se puede ver en la Figura 3. Estas pectinas son capaces de formar geles en condiciones de pH entre 2,8 y 3,5 y un contenido de sólidos solubles (azúcar) entre 60 y 70 °Bx ³⁵.

Figura 3. Pectinas con alto índice de metilación



Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20Grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platano%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20general~1.pdf>. p 24.

1.3.2 Pectinas con bajo índice de metilación. Este tipo de pectinas poseen menos del 50% de unidades del ácido poligalacturónico, por lo que son reactivos con el ion calcio, es decir, son aquellas en las cuales menos del 50% de los grupos hidroxilo están esterificados con metanol³⁶ como se puede observar en la figura 4. La gelificación depende del pH y la concentración del ion calcio³⁷.

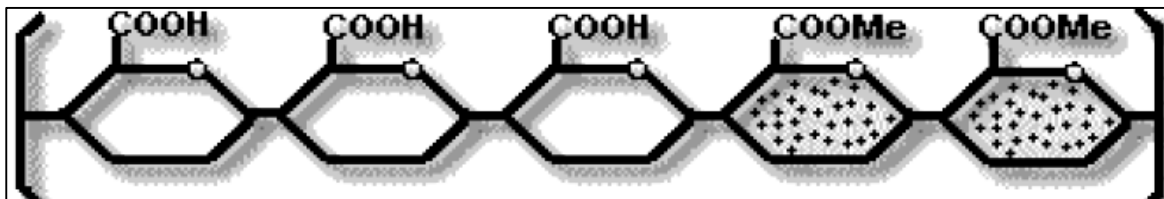
³⁴ HENAO, Cesar, GUERRA, Adrián, CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platano%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20general~1.pdf>. p 24.

³⁵ DEVIA, Op., cit., p. 23.

³⁶ Ibid., p.24.

³⁷ FERREIRA, Salomón., Pectinas: Aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial. 2007. Universidad Nacional de Colombia - Proceditor Ltda. [consultado 12 octubre 2018]. p 186.

Figura 4. Pectinas con bajo índice de metilación



Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20Ogrado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platanos%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20genera~1.pdf>. p 24.

1.3.3 Pectinas amídicas. Bajo índice de metilación. Alta capacidad de gelificación. Se obtienen mediante desmetilación en amoníaco y no en ácido³⁸.

1.4 CLASIFICACION DE LAS SUSTANCIAS PECTINAS

Según cuántos grupos carboxílicos están esterificados en la cadena o polímero, se clasifican en:

1.4.1 Protopectina. Si todos los carboxilos están esterificados. Son insolubles en agua y se hallan en mayor cantidad en los tejidos de los frutos no maduros o verdes³⁹.

1.4.1 Ácidos pectínicos. Si solo una parte, pero mayoritaria de los carboxilos está esterificada. Estos compuestos son capaces de formar geles si las condiciones de sólidos solubles y pH son adecuadas. Las sales de estos ácidos se llaman pectinatos⁴⁰.

1.4.3 Pectinas. Son los ácidos pectínicos, solubles en agua caliente, con un contenido medio de éster metílico. La principal característica es su capacidad de formar geles en presencia de suficientes sólidos solubles, ácidos o iones polivalentes⁴¹.

1.4.4 Ácidos pécticos. Estos compuestos no poseen grupos carboxílicos esterificados. Las sales de estos se denominan pectatos y reaccionan fácilmente con los iones calcio de las células para producir compuestos insolubles en los jugos

³⁸ DEVIA, Op.,cit., p. 23.

³⁹ *Ibíd.*, p.22.

⁴⁰ *Ibíd.*, p.22.

⁴¹ *Ibíd.*, p.22.

de frutas, dando un precipitado visible comúnmente en la separación de fases o abanderamiento en los néctares⁴².

1.5 GRADO DE ESTERIFICACIÓN (GE)

Las propiedades químicas de las pectinas que influyen en la fuerza del gel son el grado de esterificación y el peso molecular; por lo tanto, el grado de esterificación es un factor clave para determinar la conformación y las propiedades reológicas de las pectinas. El grado de esterificación también está relacionado con la formación del tipo de gel. A mayor grado de esterificación mayor serán las interacciones hidrofóbicas, por lo que el gel será más fuerte. Además, un alto grado de esterificación conlleva una mayor temperatura de gelificación, por eso se llaman pectinas ultrarrápidas⁴³.

A temperatura ambiente y a su propio pH (2,8 – 3,2) las pectinas son más solubles en agua a medida que aumenta su grado de esterificación. Las disoluciones que se obtienen presentan un carácter aniónico es decir poseen una carga negativa⁴⁴.

1.6 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LA PECTINA

1.6.1 Solubilidad. El agua es el mejor solvente para las pectinas. Sin embargo, estas también son solubles en formamida, dimetilformamida y glicerina caliente. Por otro lado, la pectina es insoluble en solventes orgánicos y en soluciones de detergentes cuaternarios, polímeros, proteínas y cationes polivalentes⁴⁵.

1.6.2 Acidez. Las pectinas son neutras en su estado natural, en solución tienen carácter ácido el cual depende del medio y del grado de esterificación. El pH de las soluciones de pectina varía entre 2,8 y 3,4 como función del grado de esterificación⁴⁶.

1.6.3 Viscosidad. Las pectinas forman soluciones viscosas en agua, esta propiedad depende del grado de polimerización de la pectina, el pH, la temperatura, la concentración y la presencia de electrolitos. En las pectinas con alto grado de esterificación, la viscosidad por efecto de su presencia aumenta al aumentar el peso

⁴² *Ibíd.*, p.22.

⁴³ CHASQUIBOL, Nancy., ARROYO, Edmundo., MORALES, Juan. Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. [en línea]. 2008. (26) [consultado 24 de septiembre 2018], p.178.

⁴⁴ MUÑOZ, Francisco. Extracción y caracterización de la pectina obtenida a partir del fruto de dos ecotipos de cocona (*Solanum sessiliflorum*), en diferentes grados de madurez; a nivel de planta piloto [en línea]. Maestría en Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional de Colombia, 2011 [Consultado 10 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/4006/1/822093.2011.pdf>. p. 18.

⁴⁵ ACOSTA, Gema. Comportamiento de la pectina de la pulpa de guayaba conservada con bisulfito de sodio. Trabajo de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias, 1984, [Consultado 12 febrero 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books/about/Comportamiento_de_la_pectina_de_pulpa_de.html?id=1_LpjjEACAAJ&redir_esc=y. p 25.

⁴⁶ CAYÓN, Gerardo., VALENCIA, Jorge., MORALES Humberto., DOMÍNGUEZ, Argemiro. Desarrollo y producción del plátano Dominic Hartón (*Musa AAB Simmonds*) en diferentes densidades y arreglos de siembra. [en línea], 2004 *Agronomía Colombiana*, 22, (1). [Consultado 21 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180317823003>. p. 25.

molecular, los grupos laterales y la concentración de la pectina en solución. El calcio y otros iones polivalentes aumentan la viscosidad de las soluciones de pectinas y algunas pectinas de bajo metoxilo pueden gelificar si la concentración de calcio supera un cierto límite⁴⁷.

1.6.4 Poder de gelificación de las pectinas. Para las pectinas con alto metoxilo, se considera que a un pH de 3,4 por lo menos un 40% de los ésteres metílicos están des esterificados y por lo tanto será difícil lograr la formación de un gel estable con presencia de concentraciones de 65% de azúcares. Un exceso en la concentración del azúcar puede producir cristalización en el almacenamiento. En el caso de las pectinas de bajo metoxilo, los geles son menos rígidos y se pueden trabajar con menos sólidos solubles, no dependen tanto del pH, de hecho, se pueden obtener buenos geles entre valores de pH de 2,5 y 6,5, pero requieren calcio en una concentración adecuada que varía entre 0,01 y 0,1% p/p en base húmeda⁴⁸.

1.6.5 Peso molecular. El peso molecular de la pectina se encuentra relacionado con la longitud de la cadena. Es una característica muy importante de la que dependen la viscosidad de sus disoluciones y su comportamiento en la gelificación. Los pesos moleculares de pectinas y su distribución han sido previamente estudiados sistemáticamente por viscosimetría concluyendo que varían de 20000 a 300000⁴⁹.

1.6.6 Humedad. Es un factor que incide directamente en la estabilidad de la pectina porque permite el crecimiento de microorganismos, especialmente hongos. Una pectina muy húmeda es difícil de pulverizar, se adhiere a las superficies y tiene menor estabilidad y tiempo de vida útil. Una pectina muy seca puede ser resistente a la molienda y presentar un color más oscuro⁵⁰.

1.7 ACCIÓN DE LAS ENZIMAS

Las enzimas que actúan sobre las pectinas son principalmente la pectinmetilesterasa y la poligalacturonasa. La pectinmetilesterasa ataca a los grupos esterificados con metanol y por consiguiente libera los grupos ácidos y el metanol. La poligalacturonasa ataca a las uniones de las unidades de ácido galacturónico lo que se ve reflejado en una disminución del peso molecular que a su vez modifica todas las propiedades que dependen de esta característica. Estas enzimas son producidas por hongos y bacterias⁵¹. Incluso, se han desarrollado enzimas que son capaces de degradar las conchas de las diferentes frutas para la separación de la pectina, entre estas se encuentra la endo-poligalacturonasa

⁴⁷ *Ibid.*, p. 25.

⁴⁸ FERREIRA. *Op. cit.*, p.189.

⁴⁹ OWENS, HS., MIERS, JC., MACLAY, WD. Distribution of molecular weights of pectin propionates [en línea]. 1948 3(4) [Consultado 13 septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18876994> p.277.

⁵⁰ FERREIRA. *Op. cit.*, p.189.

⁵¹ HENAO. *Op. cit.*, p.24.

producida por el hongo *Aspergillus niger* que degrada con alta eficiencia las cáscaras, logrando liberar un alto porcentaje de material péctico⁵².

La enzima endo-poligalacturonasa, actúa sobre el ácido péctico, debido a que puede hidrolizar enlaces glucosídicos adyacentes a grupos carboxilos libres. Cabe resaltar que esta enzima es capaz de hidrolizar los grupos metil éster, convirtiendo las pectinas de alto metoxilo, en pectinas de bajo metoxilo. Adicionalmente, al tratarse de una enzima del tipo Endo, degrada sustratos por ataque al azar. La protopectina, es el precursor de la pectina, esta conversión se realiza por despolimerización restringida de la protopectina. Esta última se considera como un material de baja densidad y por lo tanto puede ser más penetrable por las enzimas que la celulosa y la hemicelulosa⁵³.

En la tabla presentada a continuación se muestran algunos microorganismos productores de enzimas usadas por investigadores europeos para la extracción enzimática de pectina ya sea con fines analíticos o industriales⁵⁴.

Cuadro 2. Microorganismos utilizados para la extracción de pectina

Microorganismos	Preparado	Aplicación	Referencia
Levaduras			
<i>Kluyveromyces Fragilis</i>	Extracto	Industrial	Donaghy IA & McKay AM. Peelin extraetion from citnls peel by polygalacturonase produced on whey. Bíoresource Technol47:25-28. 1994,
<i>Kluyveromyces Fragilis</i>	Purificado	Analítica	Renard CMOG, Searle van Leeuwe MJF, Voragen AOJ, Thibuult JF, & Pilnik W, Studies on apple protopectin, Ir: Apple cell wal! degradation by pure polysaccharidases and their combinations. Carbohydr Polym 14:295-314,1991.

Fuente: elaboración propia

⁵² CONTRERAS. Op. cit., p.1.

⁵³ SERRAT, Manuel., DUMÉ, Richard., DEL TODO, Yuniesky., RODRIGUEZ, Odalys., ALMENARES, Juan., Machado, Roberto. Hidólisis enzimática del ácido péctico con una endopoligalacturonasa de levadura: Cinética y distribución de masas moleculares [en línea] 2013. 25(1) [consultado: 13 septiembre 2018]. p. 50.

⁵⁴ CONTRERAS. Op. cit., p. 208.

Cuadro 2. (Continuación)

Microorganismos	Preparado	Aplicación	Referencia
Hongos filamentosos			
<i>Aspergillus aculeatus</i>	Purificado	Analítica	Renard CMGC, Thibault IF, Voragen AGI, van den Broek LAM & Pilnik W. Studies on apple protopectin. VI: Extraeriu of pectins from apple cell wall, wüh rhamnogalacutronase. Carbohydr Polym 22:203210.1993.
<i>Aspergillus niger</i>	Purificado	Analítica	Renard CMOC, Searle van Leeuwe MJF, Voragen AOJ, Thibuult JF, & Pilnik W, Studies on apple protopectin, Ir: Apple cell wall! degradation by pure polysaccharidases and their combinations. Carbohydr Polym 14:295-314,1991. 45
<i>Aspergillus awamori</i>	Purificado	Analítica	Renard CMOC, Searle van Leeuwe MJF, Voragen AOJ, Thibuult JF, & Pilnik W, Studies on apple protopectin, Ir: Apple cell wall! degradation by pure polysaccharidases and their combinations. Carbohydr Polym 14:295-314,1991. 45
<i>Trichoderma viride</i>	Purificado	Analítica	Renard CMOC, Searle van Leeuwe MJF, Voragen AOJ, Thibuult JF, & Pilnik W, Studies on apple protopectin, Ir: Apple cell wall! degradation by pure polysaccharidases and their combinations. Carbohydr Polym 14:295-314,1991. 45

Fuente: elaboración propia

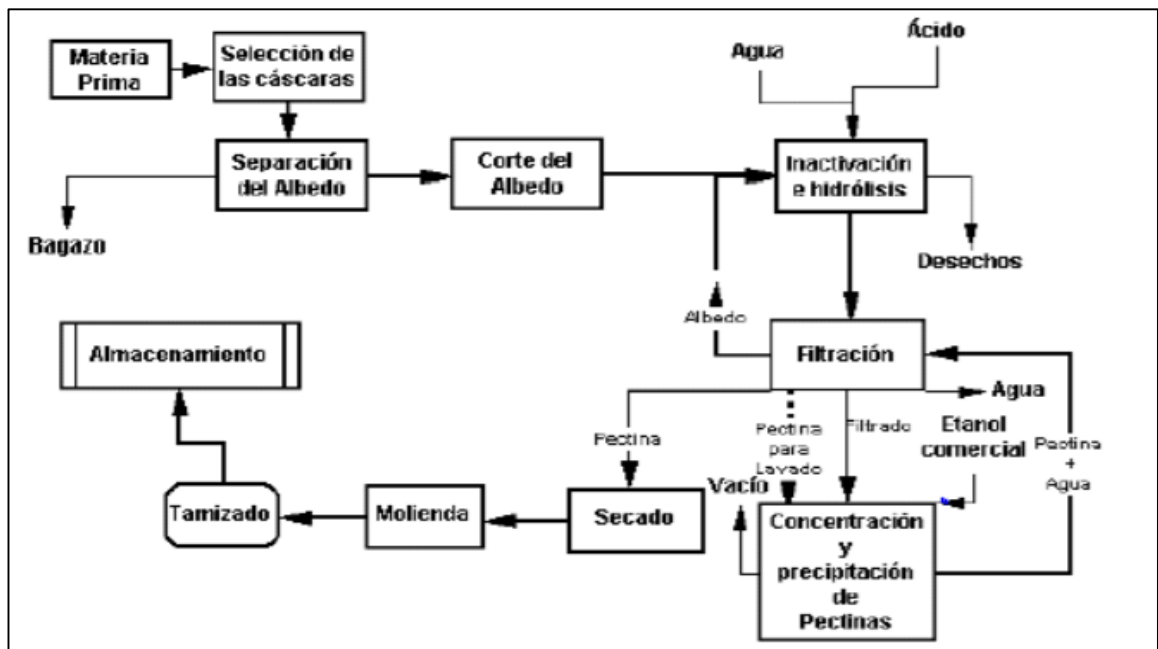
Cuadro 2. (Continuación)

Bacterias			
<i>Bacillus polymixa</i>	Extracto	Industrial	Matora A V, Korshunova VE, Shkodina OG; Zhemerichkin DA, Ptitchkina NM & Morris ER. The application of bacterial enzymes for extraction of pectin from pumpkin and sugar beet. Food Hydrocolloids 9:43-46. 1995

Fuente: elaboración propia

1.8 HIDRÓLISIS ÁCIDA

Figura 5. DF para la obtención de pectinas por el método químico



Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado->

[Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20apartir%20de%20cascaras%20de%20platanos%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20genera~1.pdf](#). p 30.

Cuadro 3. Etapas del proceso de hidrólisis ácida

Etapa	Descripción
INACTIVACION DE ENZIMAS	Se desactivan las enzimas pécticas presentes en la cáscara calentando hasta ebullición durante 30 min.
HIDRÓLISIS	Al material sólido se le agrega la misma cantidad de agua usada inicialmente y a esta solución se le agrega ácido sulfúrico, ácido nítrico o, preferiblemente, ácido clorhídrico hasta obtener un pH entre 1,5 y 3. Se calienta la solución a 60-80 °C durante un tiempo aproximado de 40 minutos
PRECIPITACIÓN	Se usa un volumen del 60% de etanol con respecto a la solución obtenida en el proceso de hidrólisis para lograr el precipitado de la pectina.
FILTRACIÓN	El proceso de filtrado a nivel de laboratorio es muy lento, por tanto, se usa una centrifuga o una bomba de vacío para acelerar el proceso.
SECADO Y MOLIENDA	La pectina húmeda se seca en horno a 40 °C, durante 12 horas. La masa sólida resultante se muele hasta que pase por una malla 80.

Fuente: ROJAS, Jennifer., PEREA, Aidé., STASHENKO, Elena. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos [en línea]. 2009. 19(1) [consultado 18 agosto 2018]. p.112.

1.9 GENERALIDADES DE LOS APÓSITOS MÉDICOS

El objetivo de la curación de heridas es restaurar la integridad de un tejido para que se puedan restablecer los mecanismos homeostáticos y se pueda minimizar la pérdida de líquidos y el riesgo de infección. Es un proceso complejo, desencadenado por una lesión en el tejido y que termina en la regeneración o reparación⁵⁵. Con la finalidad de acelerar los procesos de curación y restauración integral, se han desarrollado diversos materiales capaces de cumplir con las propiedades básicas y requerimientos específicos que son conocidos como apósitos.

Los apósitos para heridas son una parte importante del mercado de la gestión de heridas médicas y farmacéuticas en todo el mundo. Diversos diseños y alternativas se han desarrollado para el cuidado de heridas, esto teniendo en cuenta la variedad de tipos de heridas lo que ha dado pie al desarrollo de nuevas investigaciones para mejorar la calidad de los apósitos, permitiendo obtener materiales mucho más eficientes y al mismo tiempo más económicos y amigables con el medio ambiente.

⁵⁵ SHAHZAD, . Op. cit., p.444.

Las propiedades básicas requeridas para un apósito para heridas son el mantenimiento de la humedad y los nutrientes en el sitio, la oxigenación, el control de la inflamación, la proliferación de fibroblastos y la epitelización⁵⁶, características que han sido empleadas como guía para elaboración de materiales empleando biopolímeros como proteínas, polisacáridos y proteoglicanos.

Dentro de los materiales más usados para este tipo de invenciones se encuentran los apósitos a base de pectina, debido a su facilidad para formar geles y emulsiones estabilizadas, lo que les permite tener un gran poder absorbente capaz de retener la humedad generada como resultado de los exudantes de las heridas en su proceso normal de cicatrización.

Los apósitos deben cumplir una serie de requisitos establecidos por la Farmacopea Europea, los cuales son expuestos en la tabla a continuación⁵⁷.

Cuadro 4. Características de apósitos según la Farmacopea Europea

Aspecto	Descripción
Parte 1: Aspectos de la absorbencia.	La capacidad de absorber líquidos y donar agua a una herida seca.
Parte 2: Velocidad de transmisión de vapor de humedad de los apósitos de película permeable.	Aseo quirúrgico proporcionando la humedad, temperatura y pH apropiados.
Parte 3: Impermeabilidad.	Barrera física: para evitar golpes y mayores daños físicos, además de actuar como barrera para impedir el paso de sustancias.
Parte 4: Conformabilidad.	Relleno espacial: para heridas profundas de la cavidad.
Parte 5: Propiedades de barrera bacteriana.	Control microbiano
Parte 6: Control del olor.	Manejo de olores, para heridas infectadas.
Parte 7: Pérdida de partículas.	La deficiencia en cualquier ion metálico retrasa la cicatrización de las heridas.
Parte 8: Aspectos de adherencia	Eliminación o baja adherencia a la herida

Fuente: elaboración propia

⁵⁶ PURI, Monica., KUMAY, Vinay. The role of biopolymers and biodegradable polymeric dressings in managing chronic wounds [en línea]. 2da ed. Woodhead: Publishing, 2019. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081021927000163>

⁵⁷ THOMAS, Steve., UZUN, Muhammet. Testing dressings and wound management Materials [en línea]. 2da ed. Woodhead: Publishing, 2019, [citado el 12 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081021927000023>

1.10 GENERALIDADES DE LA BIOPELICULA

El campo de la investigación y la elaboración de biopolímeros ha ido en constante crecimiento durante los últimos años, con la finalidad de dar cumplimiento a una serie de legislaciones ambientales que se han venido desarrollando, mejorando y aplicando en diversos países. Adicionalmente se busca desarrollar nuevos materiales con conciencia ecológica, mitigando daños ambientales y permitiendo avances en áreas como la medicina, la industria alimenticia y en general la sustitución de plásticos⁵⁸.

Los biopolímeros son macromoléculas presentes en los seres vivos. Una definición de los mismos los considera materiales poliméricos o macromoleculares sintetizados por los seres vivos. También, a raíz de nuevas disciplinas médicas como la ingeniería de tejidos, como biopolímeros también se incluyen materiales sintéticos con la particularidad de ser biocompatibles con el ser vivo (normalmente con el ser humano). De entre los biopolímeros los referidos a la primera clasificación, existen tres principales familias: proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos, aunque también otros más singulares como los poli-terpenos; entre los que se incluye el caucho natural, los polifenoles (como la lignina) o algunos poliésteres como los polihidroxicanoatos producidos por algunas bacterias⁵⁹.

El almidón es uno de los polímeros naturales más abundante en la tierra, producido por las plantas verdes para el almacenamiento de energía durante un largo período⁶⁰ cuya estructura consiste en macromoléculas ordenadas en capas y cuyas características en cuanto a composición y cantidad, varían con el tipo de fuente⁶¹. Debido a su completa biodegradabilidad⁶², bajo costo y renovabilidad, el almidón ha estado recibiendo una atención creciente desde la década de 1970⁶³.

Una de las propiedades más importantes del almidón natural es su semicristalinidad donde la amilopectina es el componente dominante para la cristalización en la mayoría de los almidones. La parte amorfa está formada por regiones ramificadas de amilopectina y amilosa. Las propiedades comercialmente significativas del almidón, tales como su resistencia mecánica y flexibilidad, dependen de la

⁵⁸ GARCÍA, Alma. Obtención de un polímero biodegradable a partir de almidón de maíz. [en línea]. San Salvador, El Salvador: ITCA Editores, 2015. Disponible en: <http://www.redicces.org.sv/jspui/bitstream/10972/2436/4/05%20Obtenci%C3%B3n%20de%20un%20pol%C3%ADmero%20biodegradable-convertido.pdf>. p. 20.

⁵⁹ *Ibíd.*, p.21.

⁶⁰ PEREZ, S; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. *Starch-Starke.*, 2010. 62 (8). p 399.

⁶¹ CORRALES, Catalina., MENESES, Juliana., VALENCIA, Marco. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. [en línea]. 2007. (8). [consultado 08 de febrero 2019], Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372007000200006

⁶² ARAUJO, M., CUNHA, S., MOTA, M.; *Biomaterials*, 13a. 2004. p 2689.

⁶³ ZHANG, JF., SUN X., Mechanical properties of poly(lactic acid)/starch composites compatibilized by maleic anhydride [en línea]. 2004, 5 (4). [consultado: 13 septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15244463>. p 1449.

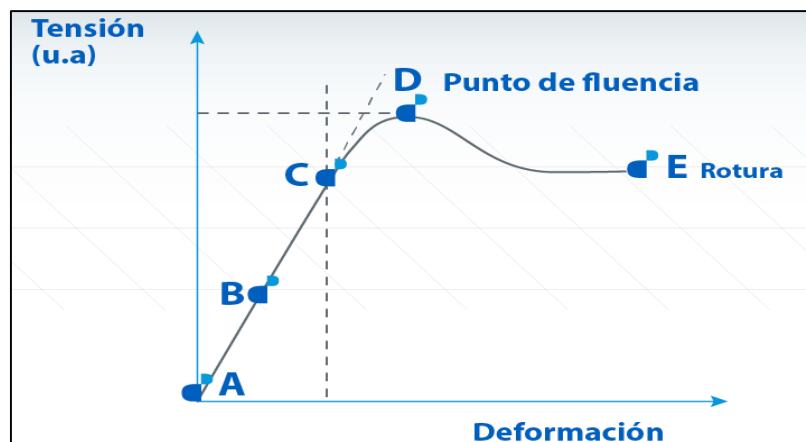
resistencia y de carácter de la región cristalina, la cual depende de la relación de amilosa y amilopectina⁶⁴.

Para convertir un almidón seco en un material bioplástico es necesario romper y fundir la estructura granular semicristalina del mismo. Dependiendo de algunas condiciones de procesamiento y almacenamiento como la temperatura y la humedad, el almidón amorfo sufre cambios estructurales después del enfriamiento, basados en: recristalización de la amilosa y la amilopectina en diferentes estructuras cristalinas, separación de fase y reorientación del polímero. Las interacciones moleculares (principalmente puentes de hidrógeno entre las cadenas de almidón) que ocurren después del enfriamiento son llamadas retrogradación ⁶⁵.

1.11 PROPIEDADES MECÁNICAS

Entre todas las propiedades de los materiales plásticos, son con frecuencia las más importantes, porque virtualmente todas las condiciones de servicio y la mayoría de las aplicaciones finales involucran algún grado de sollicitación mecánica. La comprensión básica del comportamiento de tensión-deformación de los materiales plásticos, es de suma importancia para comprender el significado físico de las propiedades mecánicas. A continuación, se describe el diagrama de tensión-deformación graficado en la figura⁶⁶.

Gráfica 1. Comportamiento de tensión-deformación para plásticos



Fuente: PETROTUYO. [sitio web]. PETROTUYO, Propiedades Mecánicas: [consulta: 12 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.petrocuyo.com/es/tecnologia/el-polipropileno/propiedades-mecanicas>

⁶⁴ GARCIA.Op. cit., p.15.

⁶⁵ THIRE, R., SIMAO, R., ANDRADE, C. Investigation of the Surface Morphology of Plasticized Corn starch Films, Act Microscopic 12 (1), (2003), p.176.

⁶⁶ PETROTUYO. Op. cit. párr. 1.

1.11.1 Tensión en el Límite Proporcional. La mayor tensión a la cual el material es capaz de mantener la carga aplicada sin ninguna desviación de la proporcionalidad tensión-deformación (ley de Hooke). El comportamiento del plástico debajo del límite proporcional es elástico y por lo tanto las deformaciones son recuperables. Esta parte de la curva representa el rango de utilidad total para la mayor parte de las aplicaciones, es raro que los productos elaborados sean útiles para su uso si las tensiones a las que será sometido exceden este punto. Este valor de tensión está debidamente señalado en el diagrama de tensión-elongación de la figura con la letra C⁵².

1.11.2 Esfuerzo de Tracción en la Fluencia. El primer punto en el cual ocurre un aumento de la deformación sin que aumente la tensión. A menos que se especifique otra cosa, esta tensión es la que corresponde al punto de fluencia. En el diagrama tensión-deformación el punto de fluencia está señalado con la letra D⁶⁷.

1.11.3 Resistencia Máxima. La máxima tensión unitaria que un material resiste cuando está sujeto a una carga aplicada en compresión, tracción o corte; cualquier incremento en la tensión lleva a la fractura de la muestra. En el diagrama tensión-deformación el punto de fluencia está señalado con la letra E⁶⁸.

1.11.4 Alargamiento en la Fluencia. Variación de la longitud de la probeta desde el comienzo del estiramiento al punto de fluencia⁶⁹.

⁶⁷ *Ibíd.*, párr. 8.

⁶⁸ *Ibíd.*, párr. 9.

⁶⁹ *Ibíd.*, párr. 10.

2. METODOLOGIA

2.1 OBTENCIÓN DE PECTINA

Dentro del siguiente apartado se describen las actividades requeridas para la extracción de pectina, utilizando en primera instancia el método químico, como base para el desarrollo de un método enzimático. Se puntualizan las etapas de pre tratamiento y preparación de materia prima, junto a la elaboración de una prueba inicial de absorción, la cual relaciona la capacidad de absorción con el tamaño de partícula. Adicionalmente, se describe paso a paso la metodología establecida para el proceso de extracción empleando la enzima endo-poligalacturonasa (*Aspergillus niger*). Finalmente, se discuten los resultados obtenidos para la estandarización del proceso, de acuerdo a las actividades desarrolladas.

2.1.1 Pretratamiento. La etapa de pre tratamiento consistió en una serie de actividades que buscan preparar la materia prima para los posteriores procesos de extracción. La metodología presentada a continuación, asienta su base teórica en el trabajo de grado titulado Estudio preliminar de la obtención y caracterización de pectinas a partir de residuos de naranjas de la variedad criolla del cantón de Acosta del autor Piza, J⁷⁰.

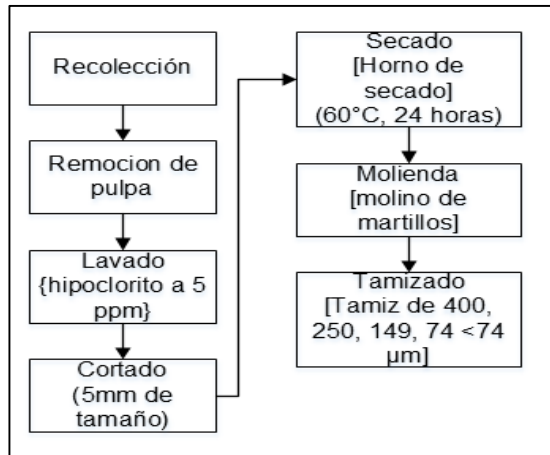
Esta etapa del proyecto comenzó con la recolección de Naranjas Valencianas provenientes del municipio de Pacho, Cundinamarca, con estados de maduración entre 0-3 (figura 1), teniendo en cuenta que las naranjas verdes presentan mayor cantidad de pectina ⁷¹, como se expuso anteriormente en el apartado 1.1 del marco teórico. El primer paso del pre tratamiento fue la remoción de la pulpa de la cáscara, seguido de su respectivo lavado con hipoclorito en una concentración de 5 ppm para eliminar posibles contaminantes. Posteriormente, se procedió a realizar la disminución del tamaño de la cáscara a 5 mm aproximadamente, con la finalidad de disminuir el tiempo requerido para la etapa de secado y molienda. Seguidamente, la cáscara se dejó en secado en horno de secado **Nabertherm P330** durante 3 días a 60 °C.

Finalmente, con ayuda de un molino de martillos se realizó molienda. Seguidamente, se realizó el proceso de tamizado, utilizando tamaños de partícula de 400, 250, 149, 74 y <74 µm respectivamente, según disponibilidad dentro de Tecnoparque del SENA. A continuación, se presenta el diagrama 1 del proceso de pre tratamiento.

⁷⁰ PIZA, Jaime. Estudio preliminar de la obtención y caracterización de pectina a partir de residuos de naranjas de la variedad criolla del cantón de acosta [en línea]. Proyecto de graduación presentado para optar al grado de Licenciado en Tecnología de Alimentos. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. 1984 [consultado: 18 noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.metabase.net/docs/bn-cr-r/003557.html> p. 22.

⁷¹ DEVIA, Op., cit., p. 23.

Diagrama 1. Proceso de pre tratamiento

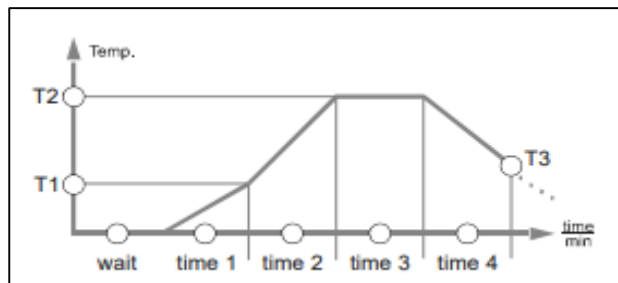


Fuente: elaboración propia

2.1.1.1 Equipo.

- **Horno de secado Nabertherm P330.** Para la operación automática del horno, antes de iniciar, se debe configurar un programa de calentamiento. Cada programa de calentamiento tiene dos rampas, una para tiempo de mantenimiento y una rampa de enfriamiento.

Figura 6. Gráfico de programa de temperatura



Fuente: NABERTHERM. Operating Instructions Controller B130/B150/B180/C280/P300/P310/P330. En: Nabertherm [sitio web]. Lilienthal. Nabertherm GmbH. [consulta 09 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.coleparmer.com/i/nabertherm-15-12-p330-muffle-furnace-910-cu-in-100-1200-c-208-240-vac/3333417>. p. 18.

En el tiempo 1 y 2, dentro del periodo T, se describe un aumento de temperatura lineal (calentamiento lento). Por otro lado, el tiempo 3 determina la duración de la temperatura configurada para el tiempo 2. Finalmente, en el tiempo 4 o tiempo de

enfriamiento, se establece la velocidad para alcanzar la temperatura 3. Si no hay ninguna especificación en T_3 y tiempo 4, el programa finaliza el calentamiento después de haber transcurrido el tiempo 3⁷².

Para el procedimiento de secado en la etapa de pretratamiento, se estableció como $T_1= 35^\circ\text{C}$ y $t_1= 20\text{min}$. Posteriormente, se programó $T_2= 60^\circ$ y $t_2= 20\text{ min}$. Finalmente se programó el $t_3= 24\text{ horas}$.

- **Molino de martillos.** El material que entra en el molino es golpeado por un conjunto de martillos girando a baja velocidad. De esta manera, se produce una primera rotura por impacto. Estos martillos lanzan el material contra el interior del molino, donde se encuentran una serie de placas de impacto, donde el material se rompe por segunda vez por impacto. Este proceso se repite mientras el material se mantiene en el interior del molino. Cuando es necesario, se equipa al molino con una serie de parrillas o cribas que determinarán el tamaño máximo de la partícula una vez molida. En el paso a través de las parrillas se produce una última rotura por cizalladura⁷³.

- **Tamizador.** El tamiz vibratorio se conecta intercalado en un tramo horizontal de la línea de transporte neumático por vacío. El movimiento vibratorio se obtiene gracias a la acción del vibrador neumático a esfera rotante. El producto a tamizar, arrastrado por la corriente de aire de transporte, ingresa a la cámara superior y cae sobre la malla metálica o tamiz. La combinación del vacío de transporte y vibración del tamiz fuerzan al producto a pasar a través de la malla metálica; el mismo cae a la cámara inferior y sigue su curso a través de la tubería de transporte, siendo retenidos en la cámara superior únicamente los terrones, grumos o impurezas que se deseaba separar del resto del producto⁷⁴.

2.1.2 Prueba de absorción. La prueba de absorción se desarrolló siguiendo el protocolo establecido por el método de Anderson et al. (1969), con modificación⁷⁵, para la determinación de la relación entre la capacidad de absorción y el tamaño de partícula. A continuación, se presenta el diagrama 2, que esquematiza todo el proceso seguido para el desarrollo de esta prueba.

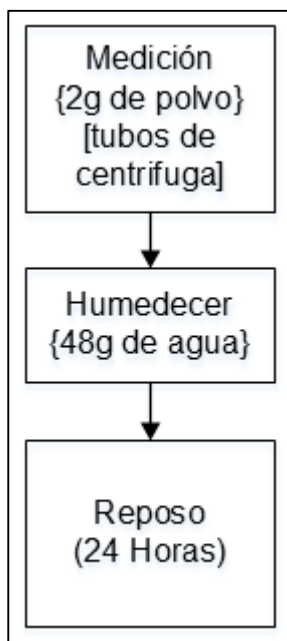
⁷² NABERTHERM. Operating Instructions Controller B130/B150/B180/C280/P300/P310/P330. En: Nabertherm [sitio web]. Lilienthal. Nabertherm GmbH. [consulta 09 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.coleparmer.com/i/nabertherm-1t-15-12-p330-muffle-furnace-910-cu-in-100-1200-c-208-240-vac/3333417>. p. 18.

⁷³ GRUBER HERMANOS. Molinos de martillos. En: Gruber Hermanos [sitio web]. Baracaldo. Gruber Hermanos [consulta: 09 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.gruberhermanos.com/images/Catalogos/7-Molinos-de-martillos.pdf>. p.1.

⁷⁴ INDUTRA [sitio web]. INDUTRA, Tamiz vibratorio [consulta: 09 julio 2019]. Disponible en: http://www.indutra.com/tamiz_vibratorio_det.php

⁷⁵ ANDERSON, R., CONWAY, H., PTEIFER, V., GRIFFIN L. Gelatinization o corn grits by roll and extrusion cooking. Cereal Sci Today, 1969. 14a Ed. [Consultado 22 febrero 2019]. p.8.

Diagrama 2. Prueba de absorción



Fuente: elaboración propia

La prueba de absorción consiste en añadir aproximadamente 2 g de cada grupo de tamaño de partícula (400 μm , 250 μm , 149 μm , 74 μm y menores a 74 μm) en tubos de centrifuga y completar con agua destilada hasta una cantidad de 50 g. Estas muestras se dejan en reposo durante 24 horas. Una vez transcurrido este periodo de tiempo, con las diferencias de pesos reportados durante todo el procedimiento se determina la capacidad de absorción para cada tamaño de partícula.

2.1.3 Extracción química. El fundamento teórico de la extracción química se basó en el artículo denominado: Proceso para producir pectinas cítricas escrito por Devia, J⁷⁶. Este procedimiento fue llevado a cabo para el polvo de la cáscara de naranja por los autores dentro del Tecnoparque del SENA.

En primera instancia, se realizaron ensayos previos a la estandarización de la extracción, con la finalidad de establecer las condiciones adecuadas para el proceso. Los ensayos previos desarrollados consistieron en:

- a) Desarrollo del procedimiento empleando los tamaños de partícula de 250 μm , 149 μm y 74 μm .
- b) La etapa de precipitación se realizó utilizando etanol a concentración de 70% y alcohol recuperado.

⁷⁶ DEVIA, Op. cit., p. 25.

c) Desarrollo de la hidrólisis química por segunda y tercera vez, sobre la misma materia prima inicial.

Finalmente, el proceso estandarizado de la hidrólisis química es el presentado en la tabla que se encuentra a continuación.

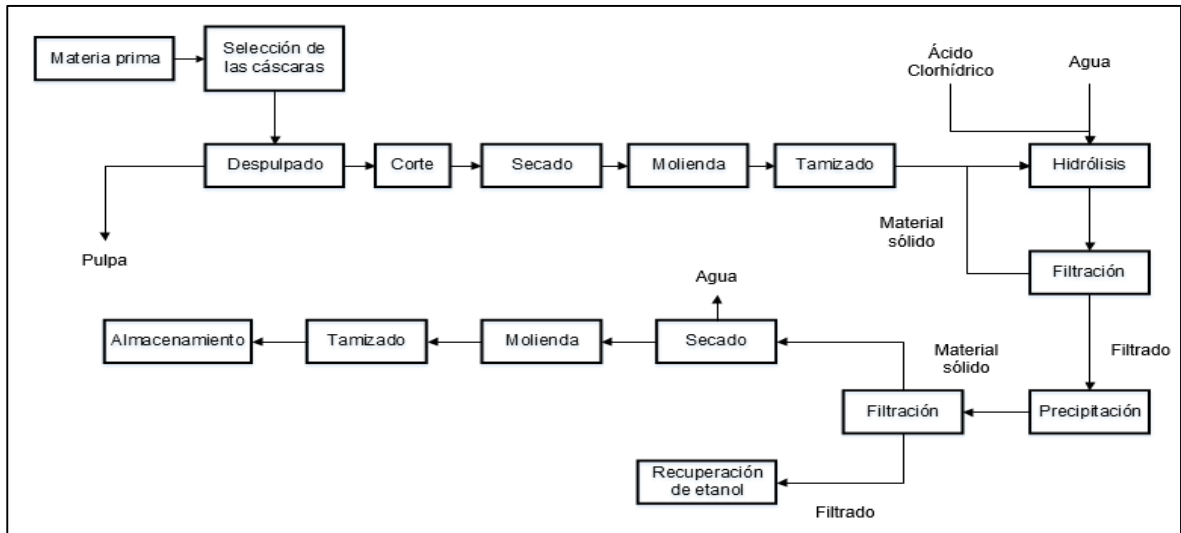
Cuadro 5. Etapas del proceso utilizado para la extracción química de pectina

Etapa	Descripción
Hidrólisis	Se tomaron 100 g de polvo de naranja de 250 μm y se agregaron 900 mL de agua destilada. A esta solución se le agregó 4,32 g de ácido clorhídrico al 37% hasta presentar un pH entre 1,5 y 3. Posteriormente, se calentó la solución a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante un tiempo de 35 minutos, tiempo que inicio después de haber alcanzado la temperatura de ebullición. Este calentamiento se realizó con ayuda de agitación mecánica constante a 500 rpm para evitar que el material se deposite en el fondo del recipiente.
Filtración de los residuos	Una vez transcurrido el tiempo, se procedió a realizar filtración para separar el material sólido y la solución líquida. El material sólido retornó a la etapa de hidrólisis con la finalidad de extraer la mayor cantidad de pectina posible, mientras que la solución líquida continuó hacia la precipitación.
Precipitación	La precipitación se realizó empleando alcohol etílico al 70%. Para esta, se utilizó un volumen de alcohol equivalente al 80% del volumen de solución proveniente de la filtración de residuos.
Filtración	Se realizó nuevamente una filtración, siendo esta vez el material sólido el producto de interés pues corresponde a la Pectina extraída.
Secado y macerado	La pectina húmeda se secó a condiciones ambiente, durante un período de aproximadamente 48 horas. La masa sólida resultante se maceró y almaceno para procesos de caracterización.

Fuente: elaboración propia

Para una mejor comprensión del proceso de hidrólisis química se presenta el siguiente diagrama de flujo.

Diagrama 3. Proceso de hidrólisis química



Fuente: elaboración propia

2.1.4 Extracción enzimática. El fundamento teórico de la extracción enzimática se basó en el artículo denominado: Extracción enzimática de pectina de mango escrito por los autores: J.C. Contreras Esquivel, L. Banda Reyes y J.C. Montañez Saenz⁷⁷. Este procedimiento fue llevado a cabo para el polvo de la cáscara de naranja por los autores dentro del Tecnoparque del SENA.

Inicialmente, se realizaron ensayos previos a la estandarización, con la finalidad de establecer las condiciones adecuadas para la extracción. Dichos ensayos consistieron en extraer pectina utilizando concentraciones de enzima endopoligalacturonasa producida por *Aspergillus niger*, de 500 y 200 ppm. Al mismo tiempo, se realizó un blanco de reacción que consistió en llevar a cabo la extracción de pectina en ausencia de enzima. El tiempo de duración de los ensayos fue de 7 horas. Con el fin de realizar control dentro de la extracción, cada hora se tomó una alícuota de 10 mL de solución, se precipitó con etanol de 70% y se centrifugó en el equipo **Hermle Z326 k**.

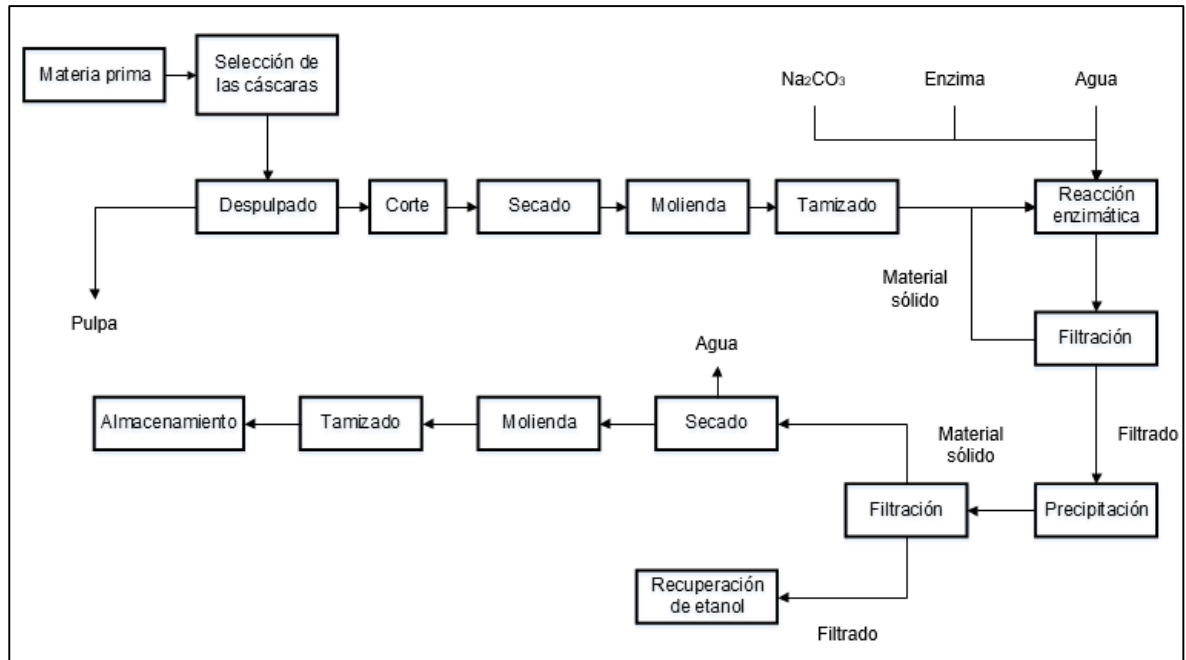
Después de ejecutados los ensayos previos, se procedió a estandarizar la extracción de pectina enzimáticamente. Se tomaron 100 g de polvo de naranja de 250 μm y se agregaron 900 mL de agua destilada. Con ayuda de Carbonato de calcio (CaCO_3) se llevó la solución hasta un pH de 5,5. Posteriormente, la mezcla se calentó a 40°C proporcionándole agitación mecánica constante de 530 rpm. Al alcanzar dicha temperatura, se agregó la enzima endopoligalacturonasa producida por *Aspergillus niger* a una concentración de 200 ppm manteniendo la agitación constante. La reacción se mantuvo bajo agitación y temperatura constante durante 7 horas. Al término de la reacción, se realizó filtración al vacío. El jugo péctico

⁷⁷ CONTRERAS. Op. cit., p.45.

contenido en la parte líquida se precipitó utilizando alcohol etílico al 70%. Se utilizó un volumen de alcohol equivalente al 80% del volumen de solución proveniente de la filtración de residuos. Seguidamente, se procedió a centrifugar la solución precipitada a 5000 rpm durante 20 minutos⁷⁸. La pectina húmeda se secó a condiciones ambiente, durante un período de aproximadamente 48 horas. La masa sólida resultante se maceró y almacenó para procesos de caracterización. La metodología anteriormente presentada se realizó con base a los experimentos realizados por Mendoza, Jiménez y Ramírez en su investigación, Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*)⁷⁹

Para una mejor comprensión del proceso de hidrólisis enzimática se presenta el siguiente diagrama de flujo.

Diagrama 4. Proceso de extracción enzimática



Fuente: elaboración propia

⁷⁸ ROJAS, Jennifer., PEREA, Aidé., STASHENKO, Elena. obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos [en línea]. 2008 16(1) [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a13.pdf>. p. 112.

⁷⁹ MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao L.*) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 133.

2.1.4.1 Equipo.

- **Centrifuga Hermle Z326 k.** La centrifuga es un equipo de laboratorio que genera movimientos de rotación, tiene el objetivo de separar los componentes que constituyen una sustancia ⁸⁰. Es un aparato que aplica una fuerza centrífuga sostenida para impeler la materia hacia afuera del centro de rotación. Este principio se utiliza para separar partículas en un medio líquido por sedimentación. Es una máquina que se utiliza, sobre todo, para la separación de mezclas heterogéneas líquido-sólidas y de mezclas líquidas como son los líquidos insolubles entre sí con distintos pesos específicos⁸¹.

Las condiciones para la operación de este equipo (5000 rpm durante 20 minutos), se establecieron de acuerdo con lo mencionado por los autores Rojas, Perea y Stashenko en su investigación denominada obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos⁸².

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS PECTINAS OBTENIDAS

A lo largo de este apartado, se describen de manera detallada las metodologías necesarias para la elaboración de una serie de pruebas de caracterización, directamente relacionadas a la identificación de pectina. El fundamento teórico de estas pruebas, se encuentra en investigaciones anteriormente desarrolladas y aplicadas a pectina extraída de frutos. Adicionalmente, se evidencian de manera contextualizada las condiciones de cada prueba y las correspondientes relaciones matemáticas que permiten lograr resultados cuantitativos.

Finalmente, se describen los resultados obtenidos para cada una de las pruebas aplicadas. Cada uno de los resultados, se discute de manera comparativa entre la pectina extraída químicamente y enzimáticamente.

2.2.1 Determinación del peso equivalente y acidez libre (AL). El fundamento teórico para la determinación del peso equivalente y la acidez libre, se basó en el artículo científico denominado: Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*), realizado por los autores: Lina Mendoza Vargas, Javier Jiménez Forero y Miguel Ramírez Niño ⁸³. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en las instalaciones dispuestas por el Tecnoparque del SENA.

⁸⁰ TPLABORATORIOQUIMICO [sitio web]. TPLABORATORIOQUIMICO, Centrifuga de Laboratorio [consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/centrifuga-de-laboratorio.html>

⁸¹ ECURED [sitio web]. ECURED, Centrifugadora [consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Centr%C3%ADfuga>

⁸² ROJAS. Op. cit., p.112.

⁸³ MENDOZA. Op. cit., p. 133.

El peso equivalente se determinó mediante la técnica de Owens, que consiste en tomar un vidrio de reloj con una muestra de 500 mg de pectina extraída, adicionarla a un Erlenmeyer de 250 mL con la ayuda de máximo 5 mL de alcohol de 95-96% para humedecerla. Posteriormente, se adicionaron 100 mL de agua destilada. Finalmente, se realizó una titulación con NaOH 0,1 N utilizando como indicador 4 gotas de rojo de fenol. Esta prueba se realizó por triplicado⁸⁴.

Para la determinación de estos parámetros se utilizaron las siguientes fórmulas, realizando la titulación por triplicado:

Ecuación 1. Determinación del peso equivalente

$$\text{Peso equivalente (Pe)} = \frac{\text{mg de componente ácido}}{\text{meq (A)NaOH}}$$

Fuente: MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao* L.) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 133.

Ecuación 2. Determinación de la acidez libre

$$\text{Acidez libre (Pe)} = \frac{\text{meq (A)NaOH}}{\text{g componente ácido}}$$

Fuente: MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao* L.) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 133.

Donde meq (A) NaOH hace referencia a los meq de NaOH utilizados en la titulación.

⁸⁴ *Ibíd.*, p. 125.

Diagrama 5. Diagrama determinación del peso equivalente y acidez libre



Fuente: elaboración propia

2.2.2 Determinación del contenido de metoxilo (ME). El fundamento teórico para la determinación del contenido de metoxilo, se basó en el artículo científico denominado: Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un Diseño general del proceso de producción, realizado por los autores: E. Cabarcas, A.F. Guerra y C.A. Henao⁸⁵. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en las instalaciones dispuestas por el Tecnoparque del SENA.

Se determinó con la solución obtenida para la determinación de peso equivalente. En primera instancia se agregaron 25 mL de NaOH 0,1 N. Posteriormente, se colocó un tapón al Erlenmeyer dejándolo en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente. Consecutivamente, se adicionaron 25 mL HCl 0,25 N para neutralizar la soda agitando permanentemente. Finalmente, se realizó una titulación utilizando NaOH 0,1 N hasta pH 7,5 cuando la solución vire a rojo por 20 segundos⁸⁶. Esta prueba se realizó por triplicado.

Para la determinación de este parámetro se utilizó la siguiente fórmula, realizando la titulación por triplicado:

⁸⁵ HENAO. Op. cit., p. 124.

⁸⁶ CAYÓN. Op. cit., p. 25.

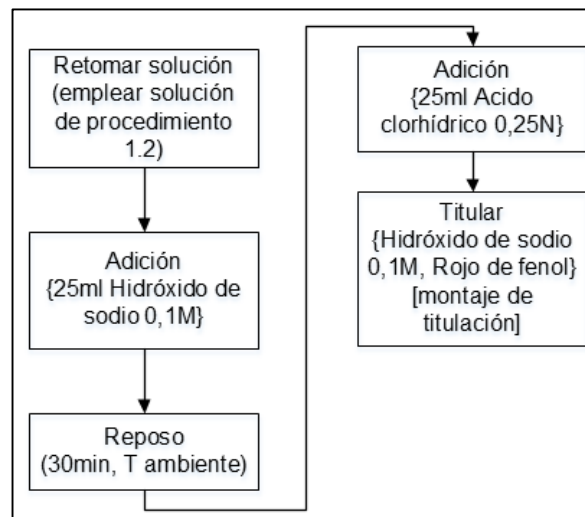
Ecuación 3. Determinación de porcentaje de metoxilo

$$\% \text{Metoxilo} = \frac{\text{meq. de NaOH} * \text{PM del metoxilo}}{\text{peso de la muestra en mg}} * 100\%$$

Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platano%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20genera-1.pdf>. p. 21.

Donde 31 g/mol es el peso molecular del metoxilo.

Diagrama 6. Determinación del contenido de metoxilo



Fuente: elaboración propia

2.2.3 Determinación del porcentaje de rendimiento de la pectina. El fundamento teórico para la determinación del porcentaje de rendimiento de la pectina, se basó en el artículo científico denominado: Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*), realizado por los autores: L. Mendoza, J. Jiménez y M. Ramírez⁸⁷. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

⁸⁷ MENDOZA, Op. cit., p. 135

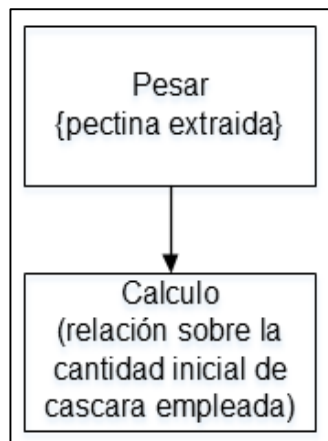
En primera instancia, se procedió a secar la totalidad de la pectina obtenida, bajo condiciones ambiente, durante 24 horas. Consecutivamente, se calculó el peso en base seca de las cáscaras utilizadas antes de iniciar el proceso de extracción⁸⁸. Para la determinación de este parámetro se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación 4. Determinación del porcentaje de rendimiento

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{g \text{ de pectina pura}}{g \text{ promedio de cáscaras o albedo en base seca}} * 100\%$$

Fuente: MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao* L.) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 133.

Diagrama 7.
Determinación del rendimiento



Fuente: elaboración propia

2.2.4 Espectrometría infrarroja. El fundamento teórico de la espectrometría de infrarrojo, se basó en irradiar la muestra con rayos electromagnéticos de varias longitudes de onda en la región infrarroja que oscilan entre 400-4000 cm^{-1} ⁸⁹. La espectroscopia infrarroja tiene su aplicación más inmediata en el análisis cualitativo: detección de las moléculas presentes en el material⁹⁰.

En la zona del espectro electromagnético IR con longitudes de onda del infrarrojo medio (entre 4000 y 1300 cm^{-1}) se suelen observar una serie de bandas de absorción provocadas por las vibraciones entre únicamente dos átomos de la

⁸⁸ FERREIRA. Op. cit., p. 23.

⁸⁹ METTLER TOLEDO. UV/VIS Spectrophotometry Fundamentals and Applications. En: Mettler Toledo [sitio web]. Schwezenbach. Market Support Group AnaChem / RK [Consulta: 09 Julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: https://www.mt.com/dam/non-indexed/po/ana/uvvis/UVVIS_SpectrophotometryGuide_09-15.pdf. p. 6.

⁹⁰ EHU [sitio web]. EHU, Caracterización de materiales cristalinos [Consulta: 09 julio 2019] Disponible en: <http://www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.htm>

molécula. Estas vibraciones derivan de grupos que contienen hidrógeno o de grupos con dobles o triples enlaces aislados ⁹¹.

En la zona del espectro electromagnético IR con longitudes de onda comprendidas entre 1300 y 400 cm^{-1} (infrarrojo lejano), la asignación de las bandas de absorción a vibraciones moleculares es más difícil de realizar, debido a que cada una de ellas está generada por absorciones individuales sumadas (multiplicidad de las bandas). Es la denominada zona de la huella dactilar (flexión de enlaces CH, CO, CN, CC)⁹².

Con base en lo anterior, se proporcionaron 3 g de pectina extraída químicamente pulverizada y seca a SENA centro de salud para la realización de este análisis. De igual manera, se proporcionó la misma cantidad de pectina extraída enzimáticamente pulverizada y seca al laboratorio de Ingeniería Química de la Universidad Nacional sede Bogotá.

2.2.5 Determinación del porcentaje de humedad. El fundamento teórico para la determinación del porcentaje de humedad, se basó en el artículo científico denominado: Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un Diseño general del proceso de producción, realizado por los autores: E. Cabarcas, A.F. Guerra y C.A. Henao⁹³. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

Según lo descrito por los autores mencionados anteriormente, para la determinación del porcentaje de humedad, se empleó 1 g de pectina, el cual se llevó a un crisol previamente pesado vacío. Posteriormente, este fue expuesto a un ambiente de 60 °C por un período de 24 horas ⁹⁴. Pasadas las 24 horas, el crisol con la muestra fue llevado a un desecador con la finalidad de evitar la absorción de agua del ambiente durante su enfriamiento. Finalmente, se realizó un pesaje del crisol y mediante la relación presentada en la ecuación 6 se obtuvo el porcentaje de humedad.

⁹¹ *Ibid.*, párr. 6.

⁹² *Ibid.*, párr. 7.

⁹³ HENAO. *Op. cit.*, p.124.

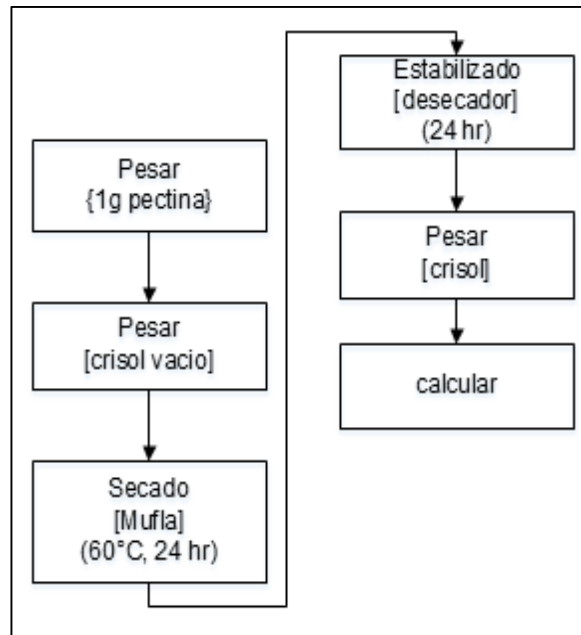
⁹⁴ FERREIRA. *Op. cit.*, p. 24.

Ecuación 5. Determinación del porcentaje de humedad

$$\%Humedad = \frac{masa\ inicial - masa\ final}{masa\ inicial} * 100\%$$

Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platano%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20gen-1.pdf>. p. 20.

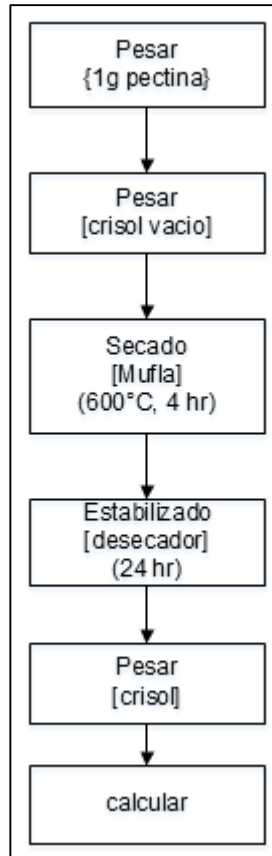
Diagrama 8. Determinación del porcentaje de Humedad



Fuente: elaboración propia

2.2.6 Determinación del porcentaje de cenizas.

Diagrama 9.
Determinación del porcentaje de cenizas



Fuente: elaboración propia

El procedimiento de determinación del porcentaje de cenizas, se basó en el artículo científico denominado: Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un Diseño general del proceso de producción, realizado por los autores: E. Cabarcas, A.F. Guerra y C.A. Henao⁹⁵. Se llevó a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

Según la recomendación de los autores mencionados anteriormente, la prueba para la determinación del porcentaje de cenizas se desarrolló empleando 1g de pectina, este fue llevado a un crisol el cual fue previamente pesado y a continuación se

⁹⁵ HENAO. Op. cit., p.124.

registró el peso de la muestra con el crisol. Se transfirió a una mufla a una temperatura de 600°C por un tiempo de 4 horas. Terminado el período de calcinación se dejó enfriar en un desecador, para luego ser pesado⁹⁶. El porcentaje de cenizas se calculó mediante la ecuación 7.

Ecuación 6. % cenizas base seca

$$\% \text{ Cenizas Base Seca} = \frac{\text{Peso de Cenizas}}{\text{Peso Muestra}} * 100\%$$

Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platanos%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20general~1.pdf>. p. 20.

2.2.7 Determinación de la alcalinidad de cenizas. El procedimiento para la determinación de la alcalinidad de cenizas, se basó en el artículo científico denominado: Aislamiento y caracterización de las pectinas de algunas variedades de frutos cítricos colombianos, realizado por el autor: S. Ferreira⁹⁷. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

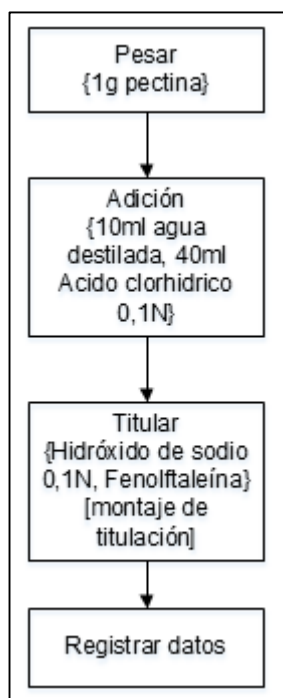
El proceso de determinación de alcalinidad de cenizas se realizó mediante una titulación por retroceso de ácido clorhídrico con neutralización de carbonatos⁹⁸. Para esto se lleva 1 g de pectina pulverizada a un Erlenmeyer con 10 mL de agua destilada y se agita hasta lograr una mezcla homogénea. A continuación, se agregan 40 mL de ácido clorhídrico 0,1 N y 4 gotas de fenolftaleína como indicador. Se enrasa la bureta con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N y seguido se desarrolla la titulación.

⁹⁶ FERREIRA. Op. cit., p. 23.

⁹⁷ *Ibid.*, p. 23

⁹⁸ *Ibid.*, p. 23

Diagrama 10.
Determinación de
alcalinidad de cenizas



Fuente: elaboración propia

La ecuación utilizada para la determinación de la alcalinidad de las cenizas se presenta a continuación.

Ecuación 7. Determinación de la AC

$$\text{alcalinidad} = (mL HCl - mL NaOH) * 0,1N$$

Fuente: FERREIRA, Salomón., Pectinas: Aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial. 2007. Universidad Nacional de Colombia - Proceditor Ltda. [Consultado 12 octubre 2018]. p 186.

Donde 0,1N, es la concentración normal del ácido y base empleados.

2.2.8 Determinación del grado de esterificación (GE). El fundamento teórico para la determinación del grado de esterificación, se basó en el artículo científico denominado: Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un Diseño general del proceso de producción, realizado

por los autores: E. Cabarcas, A.F. Guerra y C.A. Henao⁹⁹. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

Se titularon 10 mL de solución de pectina al 10% con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N, empleando fenolftaleína como indicador, el valor de solución gastado se registró como valoración A.

Una vez terminada la primera titulación, se adicionaron 20 mL de hidróxido de sodio 0,5 N, consecutivamente ocurrirá una reacción de esterificación la cual ocurre en un período de 30 minutos posteriores a la adición del hidróxido. A continuación, se añaden 20 mL de ácido clorhídrico 0,5 N para neutralizar el hidróxido de sodio y se dispone a realizar la segunda titulación empleando hidróxido de sodio 0,1 N. El valor de solución empleado en la titulación se registra como valoración B. El proceso se realizó por duplicado.

Para la determinación del grado de esterificación se emplea la ecuación 9.

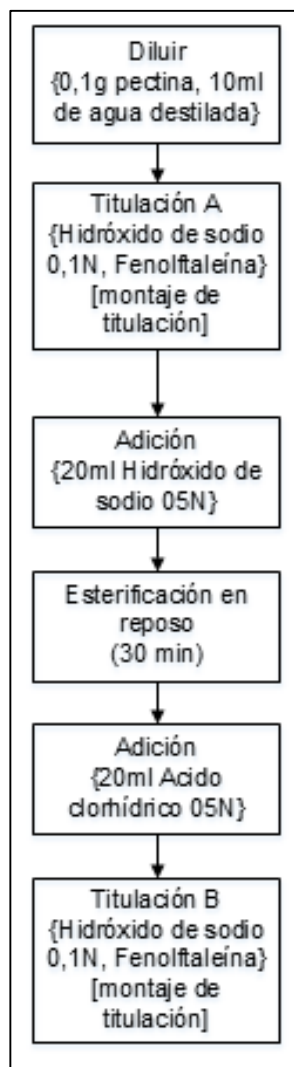
Ecuación 8. Determinación del porcentaje de grado de esterificación

$$GE = \frac{\text{Valoración B}}{\text{Valoración A} + \text{Valoración B}} * 100\%$$

Fuente: HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platano%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20genera~1.pdf>. p. 22.

⁹⁹ HENAO. Op. cit., p.124.

Diagrama 11.
Determinación del grado de esterificación



Fuente: elaboración propia

2.2.9 Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico. El procedimiento para la determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico (AAG), se basó en el artículo científico denominado: Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*), realizado por los autores: L. Mendoza, J. Jiménez y M. Ramírez¹⁰⁰. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

¹⁰⁰ MENDOZA, Op. Cit., p. 135

El método consiste en emplear los datos registrados de las titulaciones realizadas para determinar el grado de esterificación anteriormente detallado y calcular los mili equivalente de hidróxido de sodio gastados en cada valoración. Finalmente, se obtiene el valor correspondiente con base en la ecuación 10.

Ecuación 9. Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico

$$\%AAG = \frac{176 * 100 - (meqA + meqB)}{mg \text{ de componente ácido}}$$

Fuente: MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao L.*) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 133.

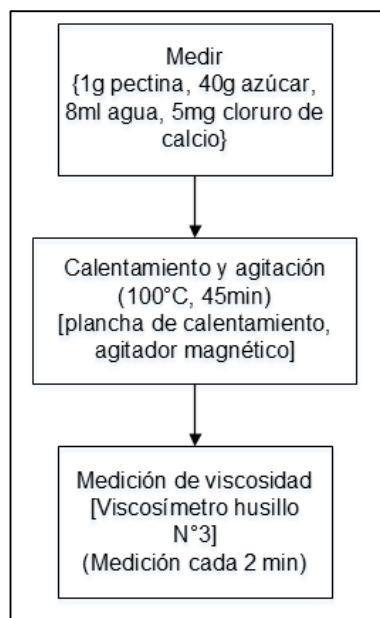
Donde el componente acido hace referencia al peso de muestra en mg.

2.2.10 Determinación de la viscosidad aparente. El fundamento teórico para la determinación de la viscosidad aparente, se basó en el artículo científico denominado: Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*), realizado por los autores: L. Mendoza, J. Jiménez y M. Ramírez¹⁰¹. Este procedimiento fue llevado a cabo para la pectina extraída químicamente y enzimáticamente por los autores, en el Tecnoparque del SENA.

Se toma 1 g de pectina seca, 40 g de azúcar pulverizada, 8 mL de agua y 5 mg de cloruro de calcio. Posteriormente, se agita y calienta la mezcla a ebullición por 45 minutos y se deja en reposo hasta enfriamiento. Consecutivamente, se realizó la medición empleando un viscosímetro rotacional o **BROOKFIELD DV-I PRIME**. La medición se realiza con el husillo N° 3, tomando lecturas a 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20, 30, 50, 60 y 100 rpm, hasta medición constante.

¹⁰¹ *Ibíd.*p. 135.

Diagrama 12. Determinación de la viscosidad aparente



Fuente: elaboración propia

2.2.10.1 Equipo.

- **Brookfield DV-I prime.** El equipo de medición basa su funcionamiento en la rotación de un husillo dentro del fluido, generando una fuerza de torque cuantificable. Para realizar una medición de viscosidad, se debe seleccionar la velocidad deseada y dejar estabilizar la lectura. El tiempo requerido para la estabilización, dependerá de la velocidad a la que se está ejecutando el viscosímetro y las características del fluido de muestra. Para una mayor precisión, se deben evitar lecturas inferiores al 10% ¹⁰².

2.3 OBTENCIÓN DE LAS BIOPELICULAS

A lo largo de este apartado, se describe el proceso de obtención de una biopelícula a partir de cáscara de naranja y pectina extraída enzimáticamente. Se presentan los procedimientos preliminares, así como también, el proceso estandarizado de la formulación final. Además, se expone, la metodología propuesta y los resultados del proceso de caracterización de la misma, cuyo fundamento teórico se encuentra descrito en distintas ASTM y NTC.

¹⁰² BROOKFIELD AMETEK. BROOKFIELD DV-I PRIME, Digital Viscometer Operating Instructions. En: Brookfield Ametek [sitio web]. Raynham. Brookfield [consulta: 15 julio 2019] Archivo PDF. Disponible en: <https://www.brookfieldengineering.com/-/media/ametektbrookfield/manuals/obsolete%20manuals/dv-i%20prime%20m07-022-d0613.pdf?la=en> p.20.

El procedimiento desarrollado para la elaboración de una biopelícula, se basó en el artículo denominado Evaluación de las propiedades químicas y mecánicas de biopolímeros a partir del almidón modificado de la papa, realizado por los autores Cavero, H. y Arroyo, E ¹⁰³. Este procedimiento fue llevado a cabo para la elaboración de una biopelícula, la cual sirvió como base para la obtención de una nueva biopelícula con presencia de pectina en su composición. Las técnicas descritas para la síntesis de las biopelículas se desarrollaron por los autores, en las instalaciones del Tecnoparque del SENA.

2.3.1 Síntesis de biopelícula. Para el proceso de síntesis se decidió emplear diversos reactivos que interactúan entre sí, los cuales le confieren características diferentes al material de acuerdo con su porcentaje de composición. Se realizaron experimentos preliminares basados en la metodología propuesta por Luna, G., Villada, H., & Velasco, R., en su investigación titulada Almidón termoplástico de yuca reforzado con fibra de fique¹⁰⁴. Dicha metodología, presenta modificaciones de acuerdo con la naturaleza de la materia prima empleada.

2.3.1.1 Método A para la producción de biopelículas. Para este método se emplearon cuatro formulaciones preliminares, las cuales son presentadas en la tabla que se encuentra a continuación.

Tabla 1. Formulación de compuestos Método A

MP	Fórm. A%	Fórm. B%	Fórm. C%	Fórm. D%
Agua	71,5	70,5	73,5	71,5
Almidón de yuca	7,5	7,5	7,5	7,5
Carbonato de sodio	1	1	1	1
Polvo de Naranja	4	4	2	2
Glicerina	16	16	16	16
Pectina	-	1	-	2

Fuente: elaboración propia

Inicialmente, se dispone de la pectina y la glicerina en un vaso de precipitado, para ser calentados a una temperatura aproximada de 55°C, de esta manera se busca tener una mezcla homogénea entre estos dos compuestos. Dado que las formulaciones A y C, no requieren de pectina, se procede al calentamiento de glicerina únicamente.

¹⁰³ALARCÓN, Hugo., ARROYO, Edmundo. Evaluación de las propiedades químicas y mecánicas de biopolímeros a partir del almidón modificado de la papa. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2016. [Consultado 15 febrero 2019]. p. 320.

¹⁰⁴LUNA, G., VILLADA, H., VELASCO, R. Almidón termoplástico de yuca reforzado con fibra de fique: preliminares. [en línea]. 2009, 76(159). [consultado en 29 mayo 2019] p. 148.

En un segundo vaso de precipitado, se agregan agua, almidón de yuca, carbonato de sodio y polvo de naranja con tamaño de partícula de 149 μm , de manera secuencial, proporcionando agitación constante, con ayuda de la plancha de agitación y verificando que, una vez agregado el almidón de yuca, este se diluya por completo dentro del agua para posteriormente agregar el Carbonato de sodio que actúa como regulador de pH y finalmente el polvo de naranja.

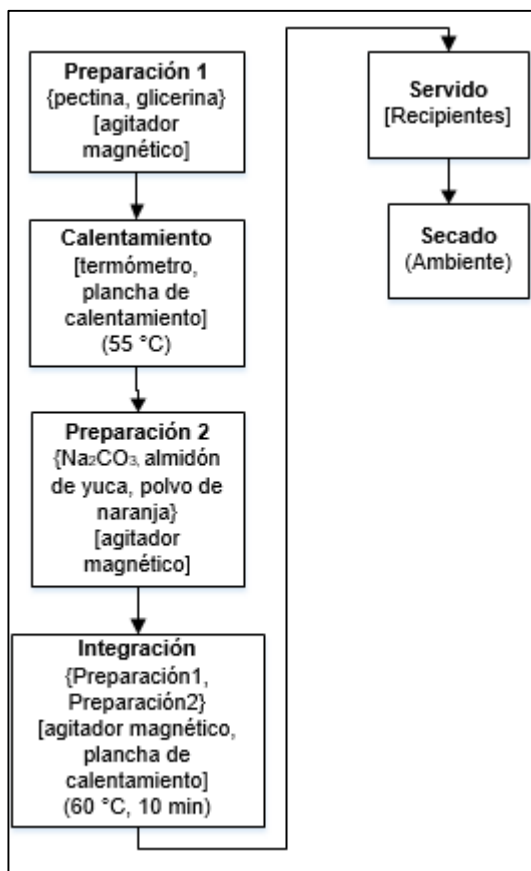
Una vez obtenida una mezcla homogénea, se dispone a agregar la mezcla caliente de glicerina y pectina, previamente mencionada. Una vez adicionada, sin detener la agitación, se mide la temperatura con la ayuda del termómetro, con la finalidad de evitar que la mezcla supere los 60°C, puesto que, a temperaturas superiores, se inician procesos de descomposición que pueden ser perjudiciales para algunas moléculas involucradas.

La mezcla final se lleva a calentamiento y agitación constantes por un período de 10 minutos o hasta observar que esta se espese, generando un incremento de viscosidad, momento en el cual se retira del calentamiento y con ayuda de una espátula se sirve en recipientes.

Cada una de las formulaciones se repite por duplicado y los recipientes correctamente rotulados, son llevados a una superficie de secado. Este proceso puede variar de acuerdo con la formulación empleada y a la evolución de cada recipiente. Dado que las técnicas de secado se desarrollan a condiciones ambientales, no es posible manipular las propiedades del aire como la humedad o temperatura, las cuales influyen de manera directa en el aumento del tiempo de secado necesario para las muestras.

A continuación, se presenta un esquema sintetizado del proceso de obtención de la biopelícula utilizando el Método A para una mejor comprensión del proceso de elaboración.

Diagrama 13. Elaboración de una biopelícula utilizando el método A



Fuente: elaboración propia

2.3.1.2 Método B para la producción de biopelículas. Se emplearon dos formulaciones preliminares sin pectina, presentadas en la tabla a continuación.

Tabla 2. Formulación de compuestos Método B sin pectina

MP	Fórm. E%	Fórm. F%
Agua	68	70
Almidón de yuca	7,5	7,5
Carbonato de sodio	0,5	0,5
Polvo de Naranja	4	2
Glicerina	20	20

Fuente: elaboración propia

Con base en el método B, se realizaron cinco formulaciones preliminares con presencia de pectina extraída enzimáticamente. Dichas formulaciones, se presentan en la tabla a continuación.

Tabla 3. Formulación de compuestos Método B con pectina enzimática

MP	Fórm. G%	Fórm. H%	Fórm. I%	Fórm. J%	Fórm. K%
Agua	68	69	69,5	69,9	69,6
Almidón	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Carbonato de sodio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Polvo de Naranja	2	2	2	2	2
Glicerina	20	20	20	20	20
Pectina enzimática	2	1	0,5	0,1	0,4

Fuente: elaboración propia

Inicialmente, se dispone de la glicerina, pectina (en las formulaciones que correspondan) y el polvo de naranja, con tamaño de partícula de 149 μm dentro de un vaso de precipitado, siendo esta la mezcla 1. Esta se calienta, proporcionando agitación constante, utilizando una plancha de agitación magnética con calentamiento. Con ayuda de un termómetro, se registra la temperatura de la mezcla, asegurando que no supere a lo largo del proceso los 60 °C. Se debe verificar la integración completa de todos los reactivos.

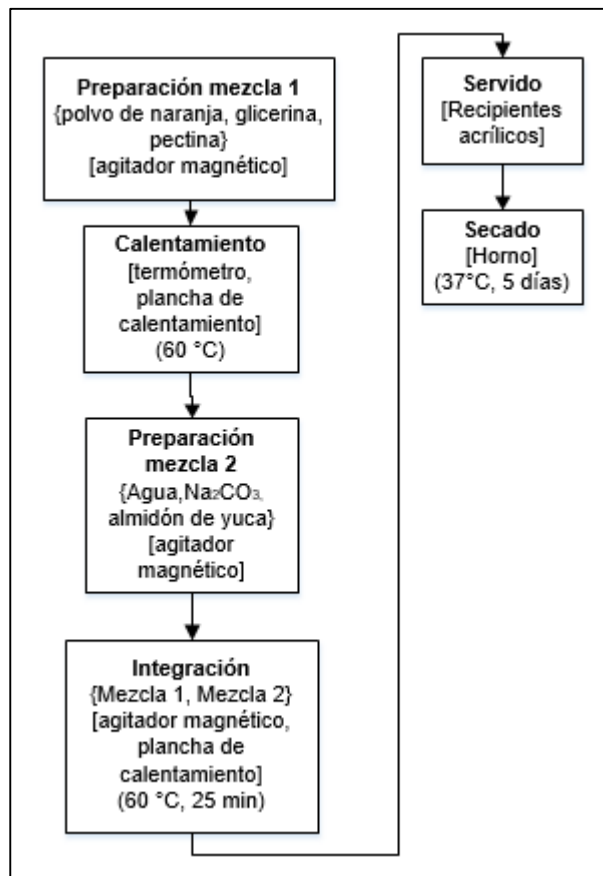
De manera análoga, en otro vaso de precipitado, se adicionan al agua bajo agitación constante, el almidón de yuca y el carbonato de sodio respectivamente manteniendo agitación constante hasta observar una mezcla completamente homogénea. Esta preparación se denominó mezcla 2.

Una vez elaboradas ambas preparaciones, la mezcla 2 es adicionada a la mezcla 1 bajo calentamiento y agitación constante. Esta nueva mezcla, se mantiene bajo las mismas condiciones por un período de 25 minutos o hasta observar un incremento de viscosidad, momento en el cual se retira del calentamiento y con ayuda de una espátula se vierte en recipientes acrílicos.

Cada una de las formulaciones se repite por duplicado y se vierten en recipientes correctamente rotulados. Los recipientes se llevan a un horno a 37°C por un periodo de cinco días.

A continuación, se presenta un esquema sintetizado del proceso de obtención de la biopelícula utilizando el Método B para una mejor comprensión del proceso de elaboración.

Diagrama 14. Elaboración de una biopelícula utilizando el método B



Fuente: elaboración propia

2.3.2 Caracterización de las biopelículas. La caracterización de las biopelículas obtenidas con y sin pectina se realizó con base en las ASTM 2457-03 para la determinación especular de películas plásticas, la ASTM 638 para las propiedades de tensión de plásticos y la NTC 1772 para la determinación del poder de absorción de las biopelículas. Las pruebas seleccionadas para la caracterización de las biopelículas se basaron en el artículo titulado Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca, escrito por: Navia, D y Bejarano, N¹⁰⁵.

2.3.2.1 Brillo especular de películas plásticas según la ASTM 2457-03. Se siguió el método descrito en la norma ASTM D2457, con un fondo negro y ángulo de observación de 45°, haciendo pasar un haz de luz a través de la muestra, midiendo en puntos aleatorios en unidades de brillo (GU). Este procedimiento fue

¹⁰⁵ NAVIA, D., BEJARANO, N. Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, [en línea]. 2014, 12(2). [consultado 10 de mayo 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000200005&lng=en&tng=en. p.42.

llevado a cabo para la biopelícula sin pectina y la biopelícula con pectina extraída enzimáticamente, en las instalaciones de la empresa Minipack S.A. en la ciudad de Bogotá D.C.

2.3.2.2 Poder de absorción de las biopelículas. El procedimiento desarrollado para la determinación del poder de absorción de las biopelículas se realizó siguiendo el protocolo establecido en la NTC 1772. Este procedimiento fue llevado a cabo para la biopelícula sin pectina y la biopelícula con pectina extraída enzimáticamente, por los autores, en las instalaciones puestas a disposición por el Tecnoparque del SENA.

2.3.2.3 Propiedades de tensión de plásticos según la ASTM 638-14. Para la determinación de propiedades de tensión de plásticos se siguió el método descrito en la norma ASTM 638-14 y se evaluaron el esfuerzo (MPa) y el porcentaje de elongación (%) de 10 probetas (5 sin pectina y 5 con pectina enzimática) en la máquina de tracción universal **SHIMADZU AG-IS 5 kN**. Este procedimiento fue llevado a cabo para las biopelículas sin pectina y con pectina extraída enzimáticamente en el laboratorio de Ensayos Mecánicos de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá a condiciones ambientales (temperatura=22 °C y humedad relativa= 62,1%). Se implementó una celda de carga de 50 N para el registro de los resultados. La velocidad del ensayo se programó a 50 mm/min.

3. RESULTADOS

3.1 OBTENCIÓN DE PECTINA

3.1.1 Pretratamiento. A continuación, se presenta la estandarización del proceso de pretratamiento de la materia prima.

Figura 7. Izquierda: Naranja exprimida. Derecha: Etapa de despulpado



Fuente: elaboración propia

La naranja seleccionada para la posterior extracción, presenta coloraciones dentro de los niveles 0 y 3, de acuerdo a lo expuesto en la figura 1, dentro del marco teórico, teniendo en cuenta que bajo estas condiciones se observan mejores rendimientos de extracción¹⁰⁶ (Figura 7, izquierda). El fruto elegido, fue despulpado para agilizar el proceso de secado. Respecto al aspecto final de la pectina, se acepta un producto con coloración, por lo tanto, no se requiere separar el mesocarpio o albedo (parte blanca de la naranja) del flavedo de la cáscara. Además, generalmente las naranjas verdes contienen mayor cantidad de pectinas y por lo tanto se logra un mejor rendimiento.¹⁰⁷ (Figura 7, derecha).

La materia prima sufre un proceso de degradación natural y distintos contaminantes microbianos, por tal motivo se realiza un lavado con hipoclorito a las cáscaras, cuya principal ventaja es su bajo costo y amplio rango de actuación frente a los microorganismos. Además, este es eficaz a baja temperatura y, generalmente, no tiene actividad residual (figura 8) ¹⁰⁸.

¹⁰⁶ PAREDES. Op. cit., p.36.

¹⁰⁷ DEVIA. Op. cit., p.23.

¹⁰⁸ BETELGEUX. Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia. En: Betelgeux [sitio web]. Valencia: Betelgeux [consulta: 05 Julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: https://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_Desinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf. p. 5,

Figura 8. Lavado con Hipoclorito de la cáscara



Fuente: elaboración propia

Para aumentar el área superficial de contacto es recomendable reducir el tamaño de los pedazos de la cáscara resultante, que se van a usar en el proceso de extracción (figura 9) ¹⁰⁹.

Figura 9. Izquierda: Corte de la cáscara. Derecha: Secado de la cáscara



Fuente: elaboración propia

Finalmente, de acuerdo con las recomendaciones establecidas por Devia¹¹⁰, la materia prima fue molida y tamizada hasta tamaños de partícula entre los 400 y 74

¹⁰⁹ DEVIA. Op. cit., p.24.

¹¹⁰ *Ibíd.*, p.26.

μm . Lo anterior, con el fin de aumentar el área superficial de contacto para la posterior extracción.

Figura 10. Molienda



Fuente: elaboración propia

3.1.2 Prueba de absorción.

Figura 11. Resultados prueba de absorción $t= 0-24$ horas respectivamente



Fuente: elaboración propia

Tabla 4. Resultados prueba de absorción

Tamaño (µm)	Tubo vacío (g)	Muestra (g)	Tubo + muestra (g)	Tubo + muestra + agua (g)	Tubo sin agua (24h)	Porcentaje de absorción
400	12,8	2,06	14,8	47,2	28,9	684,9
250	13,5	2,06	15,5	48,3	27,9	602,8
149	12,8	2,08	14,9	50,1	28,7	661,2
74	12,9	2,04	14,9	47,2	31,2	795,9
<74	13,3	2,09	15,4	47,6	35,5	958,2

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con los resultados obtenidos, se aprecia que incluso el tamaño de partícula mayor (400 µm), tiene la capacidad de absorber 684,9 veces su peso en agua. Además, se observa que, al disminuir el tamaño de partícula, aumenta la capacidad de absorción. Por tal motivo, dado que se pretende obtener un apósito natural capaz de absorber exudados de heridas tipo 1 y 2, las cuales son en gran porcentaje acuosas, se realizan las biopelículas con uno de los tamaños de partícula que presentaron mejor capacidad de absorción, es decir con: 149 µm.

Los tamaños de 74 µm y menores a 74 µm, a pesar de presentar altos porcentajes de absorción, demandan un gasto en molienda más fina, incrementando costos de producción, lo cual resulta innecesario en relación con tamaño de partículas mayores, debido a que se podrían obtener resultados similares con diferencias no representativas.

3.1.3 Extracción química. Los tamaños de partícula que presentaron una mejor absorción fueron los de 149 µm, 74 µm y menores a 74 µm. Sin embargo, al ejecutar la hidrólisis química con el polvo obtenido de la malla 100 y 200 (tamaño 149 µm, 74 µm), las filtraciones no se lograron realizar ni siquiera utilizando una bomba al vacío. Por tal motivo, no fue posible ejecutar una segunda hidrólisis al material sólido y al momento del último secado, después de la precipitación, se introdujo en el horno de secado tanto la pectina extraída como el líquido que no precipitó. Al final de esta extracción, se obtuvo un rendimiento de pectina muy bajo con gran cantidad de contaminantes, por lo que se descartó el uso de estos tamaños de partícula para el proceso de extracción química.

El tamaño de partícula seleccionado para este proceso fue 250 µm, es decir el retenido por la malla 60, teniendo en cuenta que tal como plantea la teoría se recomienda llevar a cabo este proceso con polvo de naranja de tamaño de partícula de 177 µm como mínimo¹¹¹. El hecho de no contar con un tamiz de malla 80 y la

¹¹¹ *Ibíd.*, p. 26.

dificultad de filtración con la malla 100 justifica la escogencia del tamaño de partícula retenido por la malla 60.

Por otro lado, la hidrólisis química, se desarrolló sólo por segunda vez debido a que al realizar una tercera hidrólisis no se obtuvo gran cantidad de pectina, pero si se gastó una considerable cantidad de alcohol, teniendo en cuenta que de este último reactivo se agrega el 80% del volumen del líquido que se obtenga. Se utilizó etanol al 70% debido a que con concentraciones menores o utilizando etanol recuperado la cantidad de pectina obtenida tras la extracción disminuía considerablemente. Concentraciones mayores no se consideraron, debido al alto costo de este reactivo puro.

Figura 12. Pectina Húmeda extraída químicamente



Fuente: elaboración propia

Figura 13. Pectina obtenida químicamente después de secado en el horno de secado



Fuente: elaboración propia

La tabla presentada a continuación sintetiza los resultados obtenidos tras realizar los ensayos previos a la estandarización de la extracción química.

Cuadro 6. Ensayos previos a la estandarización

Ensayo	Descripción	Criterio de escogencia	Conclusión
A	Tamaño de partícula	Facilidad de filtración	Se dificulta el proceso de filtración para tamaños de partícula inferiores a los 250 µm. Utilizando alcohol recuperado, la cantidad de pectina obtenida no fue cuantificable. Además, concentraciones mayores al 70% incrementan costos.
B	Concentración de etanol	Rendimiento de la extracción	Al realizar una tercera hidrólisis, no se obtiene cantidad de pectina cuantificable.
C	Número de hidrólisis	Rendimiento de la extracción	

Fuente: elaboración propia

Teóricamente, el proceso de secado de la pectina se debe realizar a 40°C durante 12 horas tal como se expuso en el marco teórico del proyecto en cuestión¹¹². Sin embargo, al realizar este proceso, se encontró que el secado a estas condiciones genera un oscurecimiento en el color de la pectina final, dificultando además su manipulación, tal como se observa en la figura 12. El autor Jorge E. Devia en su artículo Proceso para producir pectinas cítricas hace referencia a este fenómeno¹¹³, el cual puede estar atribuido a que la exposición a temperaturas de secado cercanas a 50 °C por tiempos prolongados (más de 12 horas) ocasiona un desdoblamiento de la pectina en un 60 a 70%. Por consecuencia, se podría estar produciendo un descenso en la pureza de la pectina y cambios en sus características fisicoquímicas¹¹⁴.

Se encontró como método más adecuado para este procedimiento, un secado a temperatura ambiente durante 48 horas¹¹⁵.

¹¹² ROJAS, Op.cit., p. 26.

¹¹³ DEVIA. Op.cit., p. 26.

¹¹⁴ PAREDES. Op.cit., p. 39.

¹¹⁵ DEVIA. Op.cit., p. 26.

3.1.3.1 Balance de masa y energía. Teóricamente se plantea una relación diluyente a materia prima de 5:1 respectivamente¹¹⁶. Sin embargo, al realizar la extracción bajo estas condiciones, se obtuvo una masa final altamente viscosa, cuya separación por filtración o centrifugación no fue posible. Por tal motivo, se procedió a desarrollar nuevas extracciones utilizando relaciones de 7:1 y 9:1, teniendo en cuenta que la cantidad de pectina solubilizada en el extracto aumenta al aumentar el diluyente¹¹⁷. Con base en lo anterior, se procedió a realizar el siguiente balance de masa y energía.

Durante la etapa de hidrólisis, para calentar la mezcla (100 g de cáscara y 900 g de agua), se utilizó una estufa eléctrica de una potencia de 2200 W, realizando el balance de energía se tiene que:

Ecuación 10. Energía suministrada por la estufa

$$Q_e = P * t = 2200 W * 2100 s = 4620 kJ$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 57.

Seguidamente, se calculó la energía necesaria para que los 100 g de cáscara lleguen a 80 °C desde una temperatura ambiente de 18 °C. La capacidad calorífica de la cáscara de naranja es de 3,77 kJ/kg°C, de acuerdo con la revisión bibliográfica realizada¹¹⁸.

¹¹⁶ PIZA, Op. cit., p. 26.

¹¹⁷ *Ibíd.*, p.25.

¹¹⁸ MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 57.

Ecuación 11. Energía de la cáscara de naranja

$$Q_c = m * C_p * \Delta T = 100 \text{ g} * 3,77 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (80 - 18) ^\circ\text{C} = 23,374 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 57.

De igual manera, la energía para que el agua se caliente a 80°C es:

Ecuación 12. Energía requerida para el calentamiento del agua

$$Q_{H_2O} = m * C_p * \Delta T = 900 \text{ g} * 4,18 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (80 - 18) ^\circ\text{C} = 233,244 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 58.

Finalmente, la energía requerida para el ácido clorhídrico, cuya capacidad calorífica es de 2,43 kJ/kg°C, según revisión bibliográfica¹¹⁹ es:

Ecuación 13. Energía requerida para el HCL

$$Q_{HCl} = m * C_p * \Delta T = 4,32 \text{ g} * 2,43 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (80 - 18) ^\circ\text{C} = 0,65 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf> . p. 61.

¹¹⁹ *Ibíd.*, p. 61.

Realizando el balance energético, se obtiene que el calor disipado durante el proceso es:

Ecuación 14. Calor disipado durante el proceso

$$Q_D = Q_e - Q_c - Q_{H_2O} - Q_{HCl} = (4620 - 23,374 - 233,244 - 0,65)kJ = 4362,73 kJ$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 58.

Este valor es el calor mínimo disipado en el proceso, ya que el agua poco a poco se va evaporando. Además, en el proceso de evaporación, no toda la cáscara es pectina, por lo cual en este también hay pérdidas de peso y al final mucho más calor sería disipado con respecto al absorbido por el sistema¹²⁰.

Por otro lado, teniendo en cuenta las cantidades de materia prima anteriormente mencionadas, se realizó la estimación del volumen total requerido para el desarrollo de la extracción, para lo cual se sumaron los volúmenes de las entradas, realizando su respectiva transformación con ayuda de las densidades¹²¹. Las densidades asumidas para la cáscara de naranja y el ácido clorhídrico fueron de: 625 kg/m³¹²² y 1,184 kg/L¹²³ respectivamente de acuerdo a la revisión bibliográfica.

Ecuación 15. Volumen requerido para la cáscara de naranja

$$V_c = 0,1 kg * \frac{1m^3}{625 kg} * \frac{1000L}{1m^3} = 0,16 L$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

¹²⁰ *Ibíd.*, p. 64.

¹²¹ CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

¹²² IQCitrus [sitio web]. IQCitrus, Cáscara deshidratada de naranja [Consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <http://iqcitrus.com/28-productos/cascara/24-cascara-deshidratada-de-naranja>

¹²³ WINKLER. Ficha de seguridad química Ácido Clorhídrico 37%. En: LCO [sitio web]. La serena. LCO. [consulta: 15 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://www.lco.cl/operations/safety-and-health/technical-info/safety-data-sheets/Ficha%20seguridad%20Acido%20Cloridrico.pdf> p.1.

Ecuación 16. Volumen requerido el agua

$$V_{H_2O} = 0,9 \text{ kg} * \frac{1\text{m}^3}{1000 \text{ kg}} * \frac{1000\text{L}}{1\text{m}^3} = 0,9 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

Ecuación 17. Volumen requerido de ácido clorhídrico

$$V_{HCL} = 0,00432 \text{ kg} * \frac{1\text{L}}{1,184\text{kg}} = 0,0036 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

A continuación, para la determinación del volumen total, se realizó la sumatoria de los volúmenes, como se presenta en la ecuación a continuación:

Ecuación 18. Volumen total requerido

$$V_T = (0,9 + 0,16 + 0,0036)\text{L} = 1,0636 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

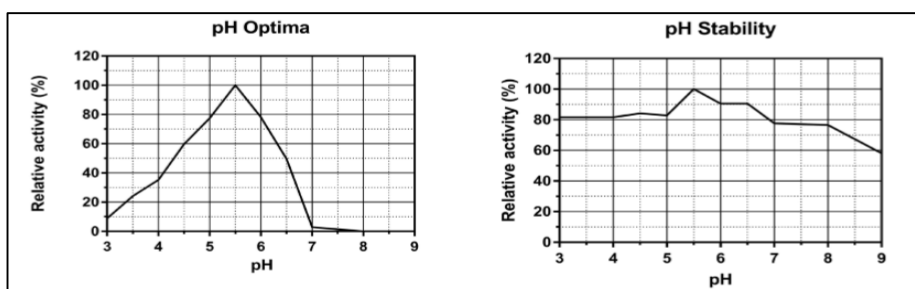
Adicionalmente, se debe asumir un 8% de sobredimensionamiento¹²⁴, por lo que el volumen total requerido sería de 1,1486 L.

3.1.4 Extracción enzimática. En el apartado 3.2 del documento se pretende comparar la pectina extraída enzimáticamente con la pectina extraída químicamente. Por lo tanto, se busca disminuir la diferencia entre las variables, de tal manera que ambos procesos sean lo más parecido posible. Persiguiendo este fin, se utilizó un tamaño de partícula de 250 μm como materia prima y etanol al 70% en la etapa de precipitación.

La enzima endo-poligalacturonasa producida por *Aspergillus niger*, se escogió parcialmente purificada debido a que como se plantea en la bibliografía, cuando se emplean enzimas de origen fúngico es necesario llevar a cabo su purificación para evitar el efecto que la presencia de enzimas contaminantes de tipo despolimerasa pueda ocasionar al proceso¹²⁵.

Por otro lado, las condiciones de temperatura y pH establecidas para el proceso en cuestión se explican teniendo en cuenta las gráficas 2 y 3, proporcionadas por el proveedor Novoenzymes en el Data Booklet de la enzima endo-poligalacturonasa producida por *Aspergillus niger*.

Gráfica 2. Condiciones de pH que favorecen la actividad enzimática



Fuente: MEGAZYME. [sitio web]. Endo-POLYGALACTURONANASE from *A. niger* (lot 180804). [consultado 26 marzo 2019], Disponible en: <https://secure.megazyme.com/endo-Polygalacturonanase-M2-Aspergillus-acuteatus>. p. 2.

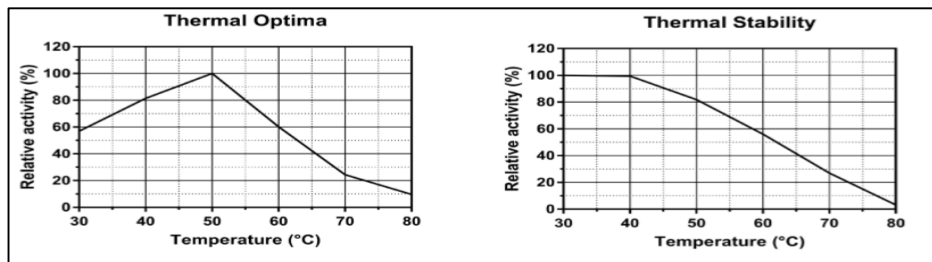
Tal como se observa en la figura anterior, el pH recomendado para trabajar con la enzima es de 5,5 pues es donde se obtiene mayor actividad. Este pH resulta también estable según la gráfica presentada a la derecha. Por lo anterior, el proceso de extracción enzimática se estandarizó con un pH de 5,5. La solución inicial de polvo de naranja y agua posee un pH alrededor de 4,70. Con el fin de ajustar el pH de la solución se utilizó Carbonato de calcio (CaCO_3) teniendo en cuenta que es un

¹²⁴ MEÑACA, Op. cit., p. 35.

¹²⁵ CONTRERAS. Op. cit., p. 208.

regulador que no presenta insolubles y su solución acuosa no requiere agitación luego de ser preparada¹²⁶.

Gráfica 3. Condiciones de T que favorecen la actividad enzimática



Fuente: MEGAZYME. [sitio web]. Endo-POLYGALACTURONANASE from *A. niger* (lot 180804). [consultado 26 marzo 2019], Disponible en: <https://secure.megazyme.com/endo-Polygalacturonanase-M2-Aspergillus-aculeatus>. p. 2

Tal como se observa en la figura anterior, la temperatura adecuada de la enzima es de 50 °C pues es donde se obtiene mayor actividad. Sin embargo, en la figura presentada a la derecha se puede observar que a esta temperatura la estabilidad térmica decrece considerablemente. Por tal motivo, recurriendo además a las sugerencias del artículo guía denominado Extracción enzimática de pectina de mango realizado por los autores: J.C. Contreras Esquivel, L. Banda Reyes y J.C. Montañez Saenz¹²⁷ se estandarizó el proceso a una temperatura de 40 °C, donde se obtiene actividad relativa alta y la mayor estabilidad térmica de la enzima sin presentarse degradación de la misma.

A continuación, se presentan detalladamente los resultados obtenidos en cuanto a obtención de pectina de los ensayos preliminares.

Tabla 5. Resultados ensayo previo blanco de reacción

Tiempo (h)	Muestra (mL)	Tubo vacío (g)	Tubo+ Pectina (g)	Pectina húmeda (g)
1	10	12,9	13,5	0,629
2	10	12,9	13,4	0,495
3	10	13,1	13,4	0,313
4	10	12,8	13,2	0,406
5	10	12,9	13,1	0,139
6	10	12,8	13,3	0,498
			TOTAL	2,48

Fuente: elaboración propia

¹²⁶ DÍAZ, José., MASS, Eduardo. Fabricación de productos de vidrio. [en línea]. Tesis de posgrado. Doctorado en química. Universidad de Buenos Aires. 1952. [consultado 21 de marzo 2019]. Disponible en: https://digital.bl.fcen.uba.ar/download/tesis/tesis_n0706_Pessler.pdf

¹²⁷ CONTRERAS. Op. cit., p. 124.

Tabla 6. Resultados ensayo previo a concentración de 200 ppm

Tiempo (h)	Muestra (mL)	Tubo vacío (g)	Tubo+ Pectina (g)	Pectina húmeda (g)
1	10	12,8	12,5	0,705
2	10	12,7	13,7	0,917
3	10	12,7	13,6	0,935
4	10	12,7	13,7	0,935
5	10	12,9	13,8	0,936
6	10	12,8	13,7	0,820
7	10	12,8	1,6	0,817
			TOTAL	6,07

Fuente: elaboración propia

Tabla 7. Resultados ensayo previo a una concentración de 500 ppm

Tiempo (h)	Muestra (mL)	Tubo vacío (g)	Tubo+ Pectina (g)	Pectina húmeda (g)
1	10	12,5	14,4	0,916
2	10	13,4	14,4	0,922
3	10	13,5	14,5	0,937
4	10	13,5	14,5	0,973
5	10	13,5	14,5	1,07
6	10	13,5	14,4	0,911
7	10	13,5	14,4	0,896
			TOTAL	6,63

Fuente: elaboración propia

Tabla 8. Resumen resultados ensayos previo

Tiempo (h)	Pectina húmeda del blanco de reacción(g)	Pectina húmeda 200 ppm (g)	Pectina húmeda 500 ppm (g)
1	0,629	0,705	0,916
2	0,495	0,917	0,922
3	0,313	0,935	0,937
4	0,406	0,935	0,973
5	0,139	0,936	1,07
6	0,498	0,82	0,911
7	-	0,817	0,896
TOTAL	2,48	6,07	6,63

Fuente: elaboración propia

El artículo guía plantea que se deben utilizar 8 μL de enzima para 80 mL de solución a procesar, lo cual equivale a adicionar una concentración de enzima de 117 ppm, tal como se presenta en el cálculo a continuación.

Ecuación 19. Concentración de enzima empleada en el artículo guía

$$8 \mu\text{L} * \frac{1\text{mL}}{1000\mu\text{L}} * \frac{1,17\text{g}}{1\text{mL}} * \frac{1000\text{mg}}{1\text{g}} = 9,36\text{mg}$$
$$\frac{9,36\text{mg}}{0,08\text{L}} = 117\text{ppm}$$

Fuente: elaboración propia

Teniendo en cuenta que la enzima empleada durante el proyecto en cuestión, difiere en concentración respecto a la del proveedor sugerido en el artículo guía, como se puede observar en el **Anexo A**, los ensayos preliminares se realizaron comenzando en exceso de enzima con 500 ppm, continuando con 200 ppm con el fin de acercarse a lo establecido bibliográficamente¹²⁸. Lo anterior, está basado en la tesis de grado titulada Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón, donde el autor Gilabert, J. estudia los procesos de extracción bajo estas concentraciones con resultados similares a los obtenidos en esta investigación, tal como se menciona a continuación.

Al final de las 7 horas se obtuvieron: 6,63 g y 6,07 g de pectina húmeda para concentraciones de 500 ppm y 200 ppm respectivamente. La diferencia entre los resultados obtenidos para las dos concentraciones es de 0,56 g, lo que equivale a una diferencia del 8,44% con respecto a lo obtenido empleando una concentración de enzima de 500 ppm. La similitud entre la cantidad de pectina obtenida a diferentes concentraciones puede atribuirse a que la velocidad de reacción enzimática depende de la concentración de sustrato, más que de la concentración de enzima presente en el medio¹²⁹.

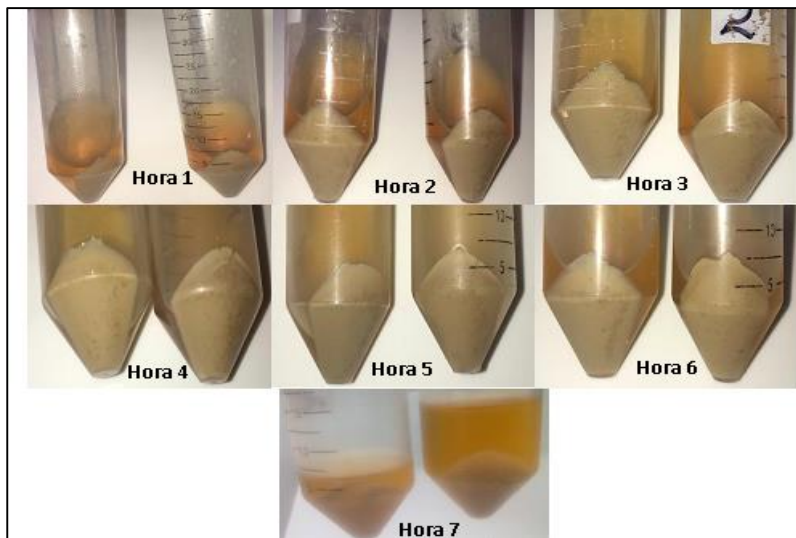
Por otro lado, teniendo en cuenta el alto costo de la enzima que influye directamente en los costos de producción, es posible llevar a cabo el proceso de extracción enzimática con una concentración de 200 ppm sin disminuir considerablemente el rendimiento de obtención de pectina, ahorrando una de las materias primas más importantes dentro del proceso.

¹²⁸ PAGAN, Jordi. Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón [en línea]. Tesis de pregrado. Universitat de Lleida. 2014 [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=od_____296::41961ca3b729002eae66c1934ffef29b.p.50.

¹²⁹ GONZÁLEZ, J [sitio web]. Curso de biomoléculas, Universidad del país Vasco [consulta: 15 abril 2019]. Disponible en: <http://www.ehu.eus/biomoleculas/>

Además, como se puede observar en las imágenes presentadas a continuación durante las 7 horas, las muestras de control de los ensayos preliminares no presentan visualmente una diferencia apreciable en términos de pectina extraída, a pesar de tratarse de dos concentraciones diferentes. Se presentan a la izquierda los resultados visuales obtenidos para la concentración de 200 ppm y a la derecha aquellos obtenidos para la concentración en exceso de 500 ppm.

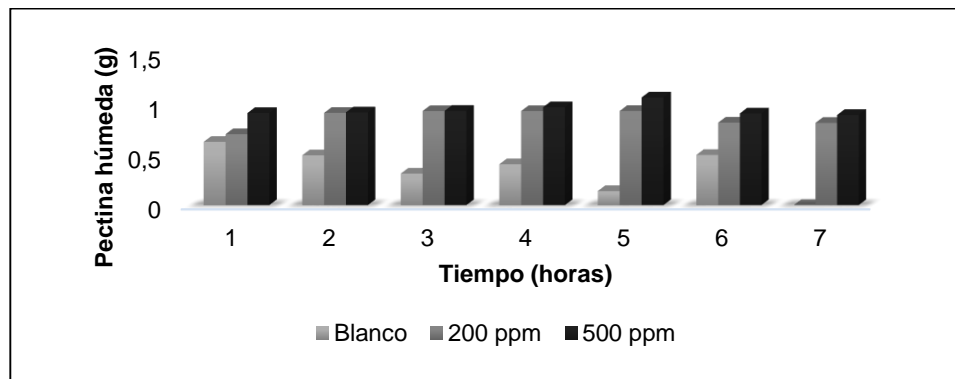
Figura 14. Resultados ensayos preliminares en términos de pectina extraída



Fuente: elaboración propia

En cuanto al blanco de reacción se refiere, resulta pertinente mencionar que después de la quinta hora la solución de polvo de naranja y agua se tornó muy densa, extremadamente viscosa, dificultando hasta el punto de no poder realizarse la filtración al vacío.

Gráfica 4. Resultados experimentales de los ensayos preliminares



Fuente: elaboración propia

En la Tabla 17, presentada anteriormente, se puede observar que la adición de la enzima endo-poligalacturonasa producida por *Aspergillus niger* favorece la obtención de pectina considerablemente. Mientras que sin enzima se obtienen 2,48 g de pectina húmeda, adicionando enzima en concentraciones de 200 ppm y 500 ppm se obtienen 6,07 g y 6,63 g de pectina húmeda respectivamente. Además, dentro de la Gráfica 4, se puede observar que durante la primera hora se obtiene la menor cantidad de pectina independientemente de la concentración utilizada. Por otro lado, durante la quinta hora se sintetiza la mayor cantidad de pectina durante el proceso y a partir de la sexta hora, el rendimiento tiende a disminuir para ambas concentraciones.

El proceso de extracción enzimática se realizó durante un tiempo de 7 horas, teniendo en cuenta que únicamente se tenía control estricto de parámetros claves como temperatura y agitación dentro de este período, todo con base al horario de las instalaciones del Tecnoparque del SENA. Adicionalmente, el autor Gilabert, J. en su tesis titulada Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón, evalúa los procesos de extracción enzimáticos utilizando la enzima endo-poligalacturonasa (*Aspergillus niger*) en tiempos de hasta 500 minutos (8,3 horas), el cual resulta menor con respecto al propuesto dentro del artículo guía de 12 horas. A pesar de la diferencia de tiempos, el autor Gilabert, J. obtiene rendimientos entre 2,95 % y 17,98%, que resultan adecuados y representativos como se profundizará a lo largo del Capítulo 2. Utilizando esta alternativa no se reporta contaminación alguna como se verá reflejado en los resultados obtenidos en el siguiente capítulo.

Figura 15. Pectina Húmeda extraída enzimáticamente



Fuente: elaboración propia

Con respecto a la reacción enzimática que se desarrolla, es posible que la enzima endo-poligalacturonasa, actúe sobre el ácido péctico, preferentemente, debido a que puede hidrolizar enlaces glucosídicos adyacentes a grupos carboxilos libres. Cabe resaltar que esta enzima es capaz de hidrolizar los grupos metil éster, convirtiendo las pectinas de alto metoxilo, en pectinas de bajo metoxilo.

Adicionalmente, al tratarse de una enzima del tipo Endo, podría degradar sustratos por ataque al azar. La protopectina como se mencionó en el marco teórico, es el precursor de la pectina, esta conversión se realiza por despolimerización restringida de la protopectina. La protopectina se considera como un material de baja densidad y por lo tanto puede ser más penetrable por las enzimas que la celulosa y la hemicelulosa. Por lo tanto, las limitaciones en este bioproceso son mínimas, ya que las enzimas tienen un fácil acceso sobre el material vegetal¹³⁰.

Finalmente, resulta pertinente destacar, de acuerdo con los resultados presentados a lo largo del capítulo, que el proceso enzimático presenta importantes ventajas tales como su facilidad de control y su bajo consumo de energía. No obstante, la extracción por vía enzimática es hoy en día más costosa que la vía química, principalmente por el costo de la enzima utilizada y los largos períodos de extracción requeridos.

Lo anterior indica que una baja en el precio de las enzimas, en términos de eficiencia en las metodologías de producción, podría hacer más competitivos este tipo de procesos en la industria. Por otra parte, el hecho de que los residuos generados por el proceso de extracción enzimático sean mucho menos contaminantes comparados con aquellos derivados del proceso químico, hace que este tipo de biotecnología tenga mejores posibilidades de aplicación a nivel industrial, una vez resueltos los problemas anteriormente mencionados.

3.1.4.1 Balance de masa y energía. Al igual que en la extracción química, se utilizó una relación diluyente a materia prima 9:1. Con base en lo anterior, se procedió a realizar el siguiente balance de masa y energía.

Durante la etapa de hidrolisis, para calentar la mezcla (100 g de cáscara y 900 g de agua), se utilizó una estufa eléctrica de una potencia de 2200 W, realizando el balance de energía se tiene que:

Ecuación 20. Energía suministrada por la estufa

$$Q_e = P * t = 2200 \text{ W} * 25200 \text{ s} = 55440 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 57.

¹³⁰ CONTRERAS. Op. cit., p. 208.

Seguidamente, se calculó la energía necesaria para que los 100 g de cáscara lleguen a 40 °C desde una temperatura ambiente de 18 °C. La capacidad calorífica de la cáscara de naranja es de 3,77 kJ/kg°C, de acuerdo con la revisión bibliográfica realizada¹³¹.

Ecuación 21. Energía de la cáscara de naranja

$$Q_c = m * C_p * \Delta T = 100 \text{ g} * 3,77 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (40 - 18) ^\circ\text{C} = 8,294 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 57.

De igual manera, la energía para que el agua se caliente a 40°C es:

Ecuación 22. Energía de requerida para el calentamiento del agua

$$Q_{H_2O} = m * C_p * \Delta T = 900 \text{ g} * 4,18 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (40 - 18) ^\circ\text{C} = 82,764 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 58.

Finalmente, la energía requerida para carbonato de calcio, cuya capacidad calorífica es de 0,818 kJ/kg°C, según revisión bibliográfica¹³² es:

¹³¹ MEÑACA, Op., cit. p. 57.

¹³² FLORES, Susana., HERNÁNDEZ, Omar. Propiedades termodinámicas de diversas sustancias a 298,15 K. En: depa.fquim.unam.mx [sitio web]. Ciudad de México. depa.fquim.unam.mx [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tablasdepropiedadesthermodinamicas_12182.pdf. p. 1.

Ecuación 23. Energía de requerida para el CaCO_3

$$Q_{\text{CaCO}_3} = m * C_p * \Delta T = 3,93 \text{ g} * 0,818 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * ^\circ\text{C}} * (40 - 18) ^\circ\text{C} = 0,0707 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 61.

Realizando el balance energético, se obtiene que el calor disipado durante el proceso es:

Ecuación 24. Calor disipado durante el proceso

$$Q_D = Q_e - Q_c - Q_{H_2O} - Q_{\text{CaCO}_3} = (55440 - 8,294 - 82,764 - 0,0707) \text{ kJ} = 55348 \text{ kJ}$$

Fuente: MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>. p. 58.

Este valor es el calor mínimo disipado en el proceso, ya que el agua poco a poco se va evaporando. Además, en el proceso de evaporación, no toda la cáscara es pectina, por lo cual en este también hay pérdidas de peso y al final mucho más calor sería disipado con respecto al absorbido por el sistema¹³³.

Por otro lado, teniendo en cuenta las cantidades de materia prima anteriormente mencionadas, se realizó la estimación del volumen total requerido para el desarrollo de la extracción, para lo cual se sumaron los volúmenes de las entradas, realizando su respectiva transformación con ayuda de las densidades¹³⁴. Las densidades asumidas para la cáscara de naranja y el ácido clorhídrico fueron de: 625 kg/m^3 ¹³⁵ y $2,96 \text{ g/cm}^3$ ¹³⁶ respectivamente de acuerdo con la revisión bibliográfica.

¹³³ Ibid., p. 64.

¹³⁴ CARRILLO, Op. cit., p. 34.

¹³⁵ IQCitrus, Op. cit., párr. 3.

¹³⁶ GTM Chemicals. Carbonato de calcio Ficha de datos de seguridad. En: GTM Chemicals [sitio web]. Bogotá. GTM Chemicals [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://www.gtm.net/images/industrial/c/CARBONATO%20DE%20CALCIO.pdf> p.5.

Ecuación 25. Volumen requerido para la cáscara de naranja

$$V_c = 0,1 \text{ kg} * \frac{1\text{m}^3}{625 \text{ kg}} * \frac{1000\text{L}}{1\text{m}^3} = 0,16 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPD F.pdf>. p. 34.

Ecuación 26. Volumen requerido el agua

$$V_{H_2O} = 0,9 \text{ kg} * \frac{1\text{m}^3}{1000 \text{ kg}} * \frac{1000\text{L}}{1\text{m}^3} = 0,9 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

Ecuación 27. Volumen requerido de carbonato de calcio

$$V_{CaCO_3} = 3,93 \text{ g} * \frac{\text{cm}^3}{2,95 \text{ g}} * \frac{\text{m}^3}{1 \times 10^6} * \frac{\text{L}}{0,001\text{m}^3} = 0,00133 \text{ L}$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

A continuación, para la determinación del volumen total, se realizó la sumatoria de los volúmenes, como se presenta en la ecuación a continuación:

Ecuación 28. Volumen total requerido

$$V_T = (0,9 + 0,16 + 0,00133)L = 1,06 L$$

Fuente: CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>. p. 34.

Adicionalmente, se debe asumir un 8% de sobredimensionamiento¹³⁷, por lo que el volumen total requerido sería de 1,14 L.

3.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS PECTINAS OBTENIDAS

Tabla 9. Resumen resultados de la caracterización de las pectinas extraídas

Nombre de la prueba	Especificación	Resultado químico	Resultado enzimático
Peso equivalente (mg/mEq)	528-2740 ¹³⁸	1082,91	2173,91
Acidez libre (mEq Carboxilos libres / g)	0,372 – 1,896 ¹³⁹	0,94	0,46
Determinación de metoxilo (%)	4,5 – 10,6 ¹⁴⁰	5,74	6,98
Rendimiento (%)	17 ± 5 ¹⁴¹	17,73	12,41
Porcentaje de humedad (%)	0,18 – 12,82 ¹⁴²	3,98	7,85
Porcentaje de cenizas (%)	0,59-5,69 ¹⁴³	6,25	7,19
Alcalinidad de cenizas (mEq)	N/R	0,76	0,90
Grado de esterificación (%)	51,8 – 85,5 ¹⁴⁴	81,48	88,34
Ácido anhídrido galacturónico (%)	12,5 ± 1,0% ¹⁴⁵	17,571	17,59

Fuente: elaboración propia

¹³⁷ MEÑACA, Op. cit., p. 35.

¹³⁸ FERREIRA. Op. cit., p. 15.

¹³⁹ Ibid., p. 15.

¹⁴⁰ Ibid., p. 16.

¹⁴¹ CERÓN S, CARDONA A. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cascara de naranja. Rev. Scielo, Ingeniería y Ciencia, Volumen 7, Numero 13. 2011. p. 67

¹⁴² FERREIRA. Op. cit., p. 14.

¹⁴³ Ibid., p. 14.

¹⁴⁴ Ibid., p. 17.

¹⁴⁵ MENDOZA. Op. cit., p. 135.

3.2.1 Determinación del peso equivalente (PE) y la acidez libre (AL). En cuanto al peso equivalente se refiere, el cual, corresponde al número de unidades de ácido urónico anhidro y el grado de esterificación¹⁴⁶, se encontró en la pectina químicamente extraída un valor de 1082,91 mg/mEq, mientras que para la pectina extraída enzimáticamente el valor obtenido fue de 2173,91 mg/ mEq. Ambos valores se encuentran dentro de los intervalos reportados en la literatura (Ferreira, 1976) tal como se evidencia en la tabla presentada al inicio del capítulo. Sin embargo, al compararlos con los pesos equivalentes obtenidos para una pectina comercial de gelificación lenta (2702,9 mg/mEq) y una de gelificación rápida (3602,1 mg/mEq) según Mendoza, Jiménez y Ramírez (2017)¹⁴⁷ el resultado es considerablemente menor. Lo anterior es atribuido a que tal como plantea la teoría el peso equivalente podría disminuir a medida que el medio se hace menos ácido y el procedimiento de extracción se vuelve menos drástico¹⁴⁸. Además, con estos resultados se puede inferir que la pectina obtenida enzimáticamente presenta características similares a una pectina de gelificación lenta.

Con respecto a la pectina obtenida enzimáticamente, el valor alcanzado es superior al señalado por la pectina química y cercano al valor máximo del rango de evaluación, siendo de 2173,91 mg/ mEq como se mencionó anteriormente. El valor del peso equivalente podría indicar la presencia de residuos de cáscara de naranja o presencia de azúcares y metabolitos, formados por la actividad enzimática que podrían quedar en suspensión posterior al secado dentro de la matriz final. Sin embargo, el resultado se encuentra dentro del rango especificado y se atribuye la diferencia de los valores al método de extracción. Dado que en el método convencional no se da paso a la generación de reacciones secundarias, se elimina la formación de productos secundarios que modifiquen el pH de la pectina e interfieran con la prueba de caracterización.

La acidez libre (AL) de una pectina comercial de gelificación lenta y una de gelificación rápida según Mendoza, Jiménez y Ramírez (2017)¹⁴⁹ es: 0,37 y 0,28 respectivamente. El valor obtenido para la pectina extraída químicamente de 0,94 es considerablemente mayor con respecto a los mencionados anteriormente. Sin embargo, se encuentra dentro de los intervalos reportados para pectina extraída químicamente por hidrólisis ácida de la cáscara de naranja¹⁵⁰. La pectina extraída enzimáticamente presentó una acidez libre de 0,46. Este valor resulta cercano a las pectinas comerciales con gelificación lenta según Mendoza, Jiménez y Ramírez (2017)¹⁵¹. A pesar de la notoria diferencia entre los valores, ambos se encuentran dentro del rango de evaluación especificado de acuerdo a la bibliografía y se ajustan a los valores presentados tanto por Mendoza, Jiménez y Ramírez, como por Ferreira, para las técnicas de extracción enzimática y química respectivamente.

¹⁴⁶ MENDOZA. Op. cit., p. 136.

¹⁴⁷ *Ibid.*, p. 137.

¹⁴⁸ *Ibid.*, p. 137.

¹⁴⁹ *Ibid.*, p. 137.

¹⁵⁰ FERREIRA. Op., cit., p. 14.

¹⁵¹ MENDOZA. Op. cit., p. 138.

Remplazando en la ecuación 2 y 3 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 29. Promedio del PE para la pectina extraída químicamente

$$\text{Peso equivalente (Pe)} = \frac{\frac{500 \text{ mg}}{4,4 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}} + \frac{500 \text{ mg}}{4,1 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}} + \frac{500 \text{ mg}}{5,6 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}}{3}$$

$$Pe = 1082,91 \text{ mg/mEq}$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 30. Promedio del PE para la pectina extraída enzimáticamente

$$\text{Peso equivalente (Pe)} = \frac{\frac{500 \text{ mg}}{2,2 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}} + \frac{500 \text{ mg}}{2,1 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}} + \frac{500 \text{ mg}}{2,6 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}}{3}$$

$$Pe = 2173,91 \text{ mg/mEq}$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 31. Promedio de la AL para la pectina extraída químicamente

$$\text{Acidez libre (Al)} = \frac{\frac{4,4 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}} + \frac{4,1 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}} + \frac{5,6 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}}}{3}$$

$$Al = 0,94 \text{ mEq/g}$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 32. Promedio de la AL para la pectina extraída químicamente

$$\text{Acidez libre (Al)} = \frac{\frac{2,1 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}} + \frac{2,2 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}} + \frac{2,6 \text{ mL} * 0,1 \text{ N}}{0,5 \text{ g}}}{3}$$

$$Al = 0,46 \text{ mEq/g}$$

Fuente: elaboración propia

3.2.2 Determinación del porcentaje de metoxilo (ME). El grado de metoxilación (ME) de la pectina extraída químicamente y enzimáticamente fue menor al 7%, siendo 5,74% y 6,98% respectivamente. Con base en lo anterior, las dos pectinas se pueden clasificar como pectina de bajo metoxilo, lo que concuerda con los resultados reportados por otros autores para pectina obtenida de cáscara de naranja¹⁵². Estos resultados indican que las pectinas obtenidas tienen un bajo poder de gelificación. Lo anterior indica que requieren de la presencia de calcio para una

¹⁵² FERREIRA. Op., cit., p. 14.

adecuada gelificación, es decir que, para ambos casos, un incremento en la concentración de calcio implica un aumento de la fuerza del gel y también un aumento de la temperatura de gelificación¹⁵³.

La diferencia entre los resultados puede atribuirse a la posible des esterificación de la pectina extraída químicamente, la cual ocurre en presencia de ácido clorhídrico, durante el proceso de neutralización (reacción de saponificación), con Hidróxido de sodio en el proceso de titulación, lo que podría disminuir la metoxilación¹⁵⁴.

Remplazando en la ecuación 4 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 33. Promedio para el PM para la pectina extraída químicamente

$$\%Metoxilo = \frac{\frac{(9,3 + 9,1 + 9,4)mL}{3} * 0,1 N * 31 g/mol}{500 mg} * 100\% = 5,74\%$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 34. Promedio para el PM para la pectina extraída enzimáticamente

$$\%Metoxilo = \frac{\frac{(11,8 + 11,2 + 10,8)mL}{3} * 0,1 N * 31 g/mol}{500 mg} * 100\% = 6,98\%$$

Fuente: elaboración propia

3.2.3 Determinación del porcentaje de rendimiento de la pectina.

Tabla 10. Resultados teóricos del % de Pectina para varios frutos

Fruto	% Pectina
Cítricos	20 - 35%
Manzana	10 - 15%
Girasol	15 - 25%
Remolacha	10 - 20%
Maracuyá	15 - 20%

Fuente: CAYÓN, Gerardo., VALENCIA, Jorge., MORALES Humberto., DOMÍNGUEZ, Argemiro. Desarrollo y producción del plátano Dominicano Hartón (Musa AAB Simmonds) en diferentes densidades y arreglos de siembra. [en línea], 2004 Agronomía Colombiana, 22, (1). [Consultado 21 mayo 2019]. p 25.

¹⁵³ PAGAN. Op. cit., p. 50.

¹⁵⁴ MENDOZA. Op. cit., p. 135.

Observando la tabla anterior, en términos generales, el porcentaje de pectina para los cítricos se encuentra entre 20%-35%. El resultado de este parámetro tanto para la pectina extraída químicamente (17,73%) como para la extraída enzimáticamente (12,41%), se encuentra dentro de los rangos reportados por distintos autores para la pectina extraída de la cáscara de naranja (17% \pm 5%) como se expuso con anterioridad en la tabla resumen del principio del capítulo. Sin embargo, dentro de la clasificación general para cítricos ambos valores resultan ser menores. Esta diferencia se puede justificar ya que el rendimiento aumenta cuando las condiciones de extracción como pH y temperatura son más estrictas¹⁵⁵.

La diferencia entre los valores obtenidos para las dos pectinas analizadas puede atribuirse a factores como el pH y la temperatura. En cuanto a la extracción enzimática se refiere, la mayoría de las enzimas son muy sensibles a los cambios de pH. Desviaciones de pocas décimas por encima o por debajo del pH adecuado pueden afectar drásticamente su actividad¹⁵⁶. Para el desarrollo de una hidrólisis ácida, resulta favorable la característica ácida de la naranja, acelerando el proceso de extracción, lo cual facilita la obtención de pectina. Por el contrario, dentro de la extracción enzimática el pH del proceso deber ser 5,5, esto con el fin de favorecer el adecuado desempeño de la enzima donde se obtiene su mayor actividad.

Por otro lado, en general, los aumentos de temperatura aceleran las reacciones químicas: por cada 10 °C de incremento, la velocidad de reacción se duplica. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley general. Sin embargo, al ser proteínas, a partir de cierta temperatura, se empiezan a desnaturalizar por el calor¹⁵⁷. Dentro del proceso de extracción enzimático se debe tener en cuenta que la adición de calor se realizó de manera poco controlada debido a la baja calidad del equipo empleado, hecho que podría haber disminuido el rendimiento de este proceso.

Sin embargo, resulta pertinente mencionar que, para el proceso de extracción enzimático, existen ejemplos de esta extracción, empleando la enzima endopoligalacturonasa producida por *Aspergillus niger*, que reportan rendimientos entre 2,95 % y 17,98%, los cuales dependen de las condiciones de temperatura y pH¹⁵⁸. Con base en lo anterior, se confirma que el porcentaje de rendimiento obtenido durante la presente investigación, bajo las condiciones anteriormente mencionadas, se encuentra dentro del rango propuesto teóricamente y es relativamente alto.

Remplazando en la ecuación 5 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

¹⁵⁵ FERREIRA. Op. cit., p. 25.

¹⁵⁶ LA GUÍA QUÍMICA. Op., cit., párr. 8.

¹⁵⁷ *Ibid.* párr. 9.

¹⁵⁸ PAGAN. Op. cit., p. 52.

Ecuación 35. Determinación del PR de la pectina extraída químicamente

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{17,73 \text{ g}}{100 \text{ g}} * 100\% = 17,73\%$$

Fuente: elaboración propia

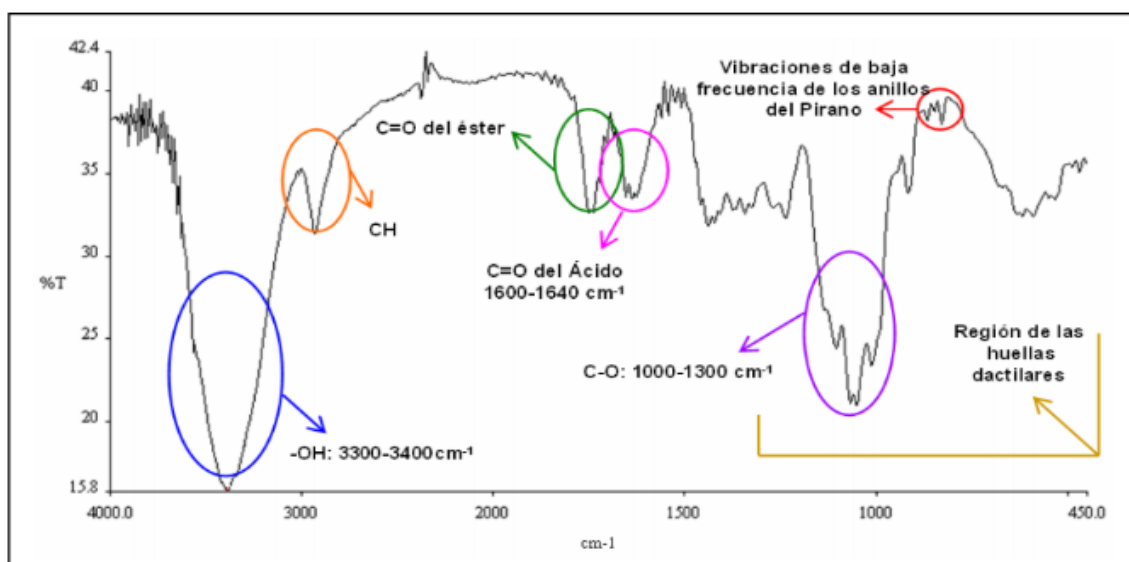
Ecuación 36. Determinación del PR de la pectina extraída enzimáticamente

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{12,41 \text{ g}}{100 \text{ g}} * 100\% = 12,41\%$$

Fuente: elaboración propia

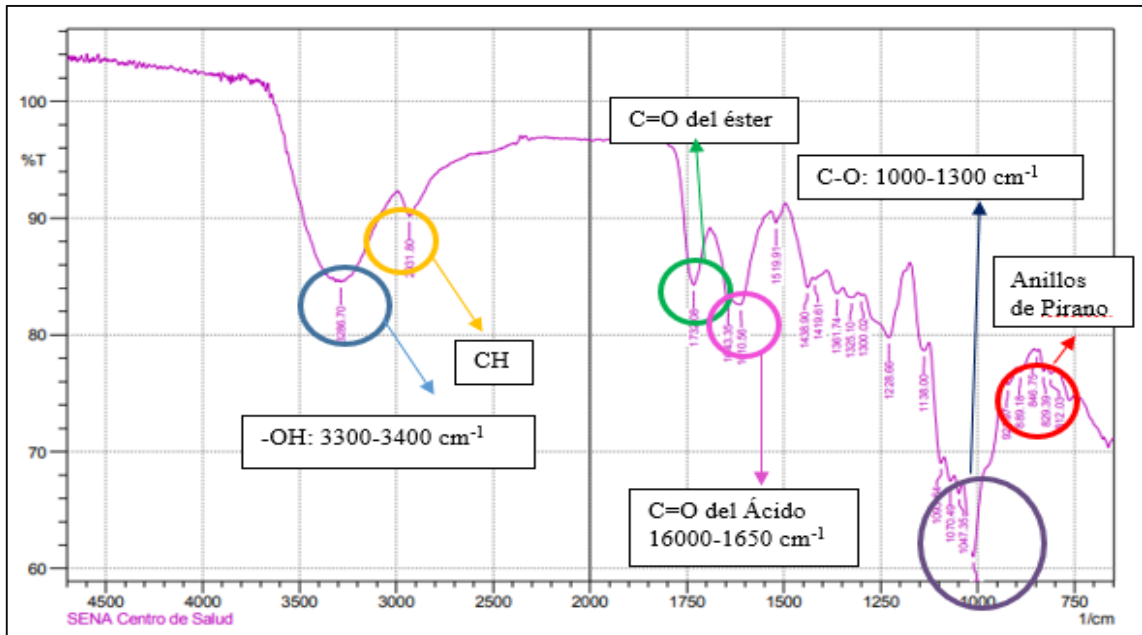
3.2.4 Espectrometría infrarroja (IR).

Diagrama 15. Espectrofotometría IR teórica para pectinas



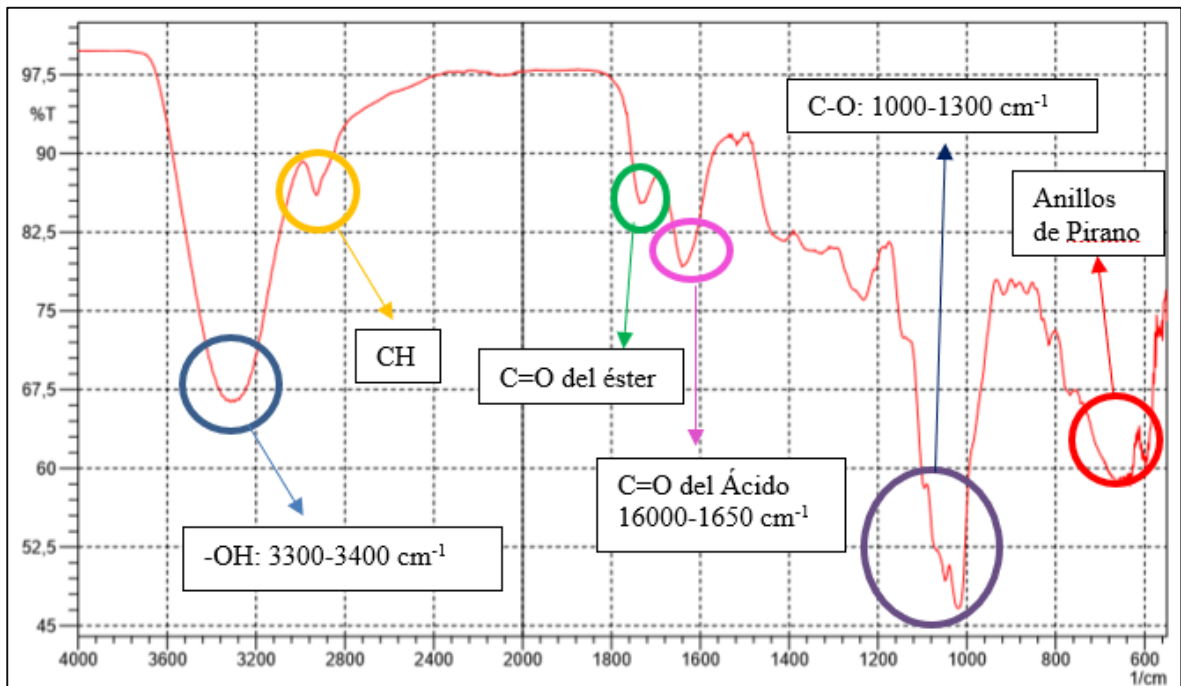
Fuente: PAGAN, Jordi. Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón [en línea]. Tesis de pregrado. Universitat de Lleida. 2014 [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=od_____296::41961ca3b729002eae66c1934ffef29b. p.120.

Diagrama 16. Espectrofotometría IR de pectina extraída químicamente



Fuente: elaboración propia

Diagrama 17. Espectrofotometría IR de pectina extraída enzimáticamente



Fuente: elaboración propia

El espectro IR de la muestra de pectina extraída químicamente del Diagrama 15 y el obtenido para pectina extraída enzimáticamente del Diagrama 16 coinciden con el espectro del estándar del diagrama 14. Estos espectros indican que, la banda ancha de absorción común cercana a 3400 cm^{-1} fue debido a las vibraciones de tensión del O-H; lo cual confirma que existen muchos grupos OH en la molécula de la pectina. Las bandas de particular importancia son aquellas que presentan un par de bandas características de intensidad fuerte entre 1630 y 1745 cm^{-1} , las cuales indican la absorbancia fuerte de grupos carboxilos libres y esterificados. Estas bandas son útiles para determinar el grado de esterificación; así como también para la identificación de pectinas de “alto” o “bajo” metoxilo¹⁵⁹.

La primera banda presenta vibraciones de intensidad fuerte en $1732,08\text{ cm}^{-1}$ y estas fueron atribuidas a las bandas de vibración de tensión de los grupos carbonílicos (C=O) presentes en los grupos COOH y en los grupos COOCH₃ de la pectina. La segunda banda característica de vibración de tensión simétrica del grupo COO— y de intensidad fuerte apareció en $1610,56$ y $1643,35\text{ cm}^{-1}$. Lo anterior confirmó el alto grado de esterificación y la presencia de pectinas de bajo metoxilo en concordancia con lo presentado en la Tabla 14¹⁶⁰. Los picos entre 1000 - 1300 cm^{-1} corresponden a la banda de vibración de flexión en el plano del grupo C—O—H¹⁶¹. Estos tres espectros confirman que estructuralmente lo extraído corresponde a pectina, teniendo en cuenta investigaciones previas como la de Pagan, J¹⁶².

3.2.5 Determinación del porcentaje de humedad. Esta prueba es un indicativo de la cantidad de agua retenida por el material analizado, es decir indica en qué porcentaje la pectina se encuentra hidratada. De acuerdo con el porcentaje obtenido en la prueba, la muestra de pectina no absorbe grandes porcentajes de humedad lo que disminuye de manera significativa riesgos sobre el producto, como su pureza y posibles degradaciones, así como su apariencia física¹⁶³.

El bajo resultado de humedad presentado por la muestra extraída químicamente (3,98%), también se atribuye al proceso de extracción empleado, dado que la pectina analizada en esta ocasión se obtiene posterior a un secado de 3 días, el cual elimina gran cantidad de la humedad retenida por la muestra.

El valor registrado para la pectina extraída enzimáticamente es ligeramente mayor al de la pectina extraída químicamente, registrando un valor de 7,85%. Este valor se atribuye principalmente al método de separación que se emplea posterior a la

¹⁵⁹ MANRIQUE Guillermo., LAJOLO, Franco. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, [en línea]. 2002, 25(1). [consultado en 11 de noviembre 2018]. p. 100.

¹⁶⁰ KAMNEV, A., COLINA, M., RODRIGUEZ, J., PTITCHKINA, N., IGNATOV, V. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. *Food Hydrocolloids*, 1998: 12 (3), p. 264.

¹⁶¹ MANRIQUE. Op. cit., p. 100.

¹⁶² PAGAN. Op. cit., p. 52.

¹⁶³ DURAN, Diana. Análisis fisicoquímico de productos farmacéuticos en las diferentes etapas del proceso de la industria farmacéutica. En: Universidad de Carabobo [consulta: 28 febrero 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://portal.facyt.uc.edu.ve/pasantias/informes/P75515319.pdf>. p.149.

etapa de precipitación con etanol, puesto que para el método enzimático se empleó separación por centrifugado, lo que permite que la pectina retenga ligeramente mayor cantidad de agua que en la separación al vacío propuesta en el método de extracción químico.

Cabe resaltar que la diferencia presente entre ambos resultados no es lo suficientemente representativa para significar posteriores anomalías ligadas al porcentaje de humedad presente en la muestra. Por el contrario, es una variable que permite determinar la pureza de la pectina extraída por dos métodos diferentes y la mínima posibilidad de presentarse metabolismos bacterianos que generen degradación en el producto¹⁶⁴.

Remplazando en la ecuación 6 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 37. Porcentaje de humedad de la pectina extraída químicamente

$$\%Humedad = \frac{1,0109 \text{ g} - 0,9706}{1,0109 \text{ g}} * 100\% = 3,98\%$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 38. Porcentaje de Humedad de la pectina extraída enzimáticamente

$$\%Humedad = \frac{1,0176 \text{ g} - 0,9377 \text{ g}}{1,0176 \text{ g}} * 100\% = 7,85 \%$$

Fuente: elaboración propia

3.2.6 Determinación del porcentaje de cenizas. El porcentaje de cenizas (PC) corresponde al porcentaje de material inorgánico presente en la muestra analizada, el valor obtenido tras la extracción por el método químico corresponde al 6,25%. Por otro lado, el porcentaje de cenizas registrado por la pectina enzimáticamente corresponde al 7,19%, el cual determina que la cantidad de materia inorgánica presente en la pectina extraída enzimáticamente es superior.

La diferencia entre los resultados es inferior al 1%, por lo que no es significativa. Sin embargo, esta diferencia, se atribuye a la posible presencia de agentes contaminantes en la materia prima empleada y en la etapa de secado posteriores al proceso de extracción, considerando que el ambiente al que es expuesto el material en esta etapa no está controlado.

¹⁶⁴ *Ibíd.*, p. 150.

Ambos resultados son comparables con los valores registrados por autores que han empleado el mismo método de extracción por hidrólisis ácida¹⁶⁵. Reemplazando en la ecuación 7 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 39. Determinación del PC para la pectina extraída químicamente

$$\% \text{ Cenizas Base Seca} = \frac{19,8668 \text{ g} - 19,7909 \text{ g}}{1,2146 \text{ g}} * 100\% = 6,25\%$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 40. Determinación del PC para la pectina extraída enzimáticamente

$$\% \text{ Cenizas Base Seca} = \frac{21,0745 \text{ g} - 20,9286 \text{ g}}{2,0284 \text{ g}} * 100\% = 7,19\%$$

Fuente: elaboración propia

3.2.7 Determinación de la alcalinidad de cenizas. El resultado obtenido está fuertemente ligado a la presencia de tartratos y citratos, los cuales otorgan un carácter alcalino a las cenizas presentes dentro de la pectina, adicionalmente se atribuye la cantidad de carbonatos presentes en disolución acuosa¹⁶⁶. Los resultados obtenidos para las pectinas analizadas fueron 0,76 mEq para la extraída químicamente y 0,9 mEq para la extraída enzimáticamente.

Ambos resultados reflejan la alcalinidad característica de la pectina, tal como se mencionó con anterioridad. Sin embargo, la diferencia entre estos valores radica en que, para el método enzimático, se requiere de un ajuste inicial de pH utilizando carbonato de sodio (CaCO₃).

Lo anterior, genera un incremento de carbonatos en la disolución, que se ve reflejado en un mayor gasto de base durante la titulación y por consiguiente en el resultado de la alcalinidad de cenizas.

Reemplazando en la ecuación 8 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 41. Determinación de AC para la pectina extraída químicamente

$$\text{alcalinidad} = (15 \text{ mL} - 7,4 \text{ mL}) * 0,1\text{N} = 0,76 \text{ mEq}$$

Fuente: elaboración propia

¹⁶⁵ *Ibíd.*, p. 51.

¹⁶⁶ *Ibíd.*, p. 51.

Ecuación 42. Determinación de AC para la pectina extraída enzimáticamente

$$\text{alcalinidad} = (20 \text{ mL} - 11 \text{ mL}) * 0,1N = 0,9 \text{ mEq}$$

Fuente: elaboración propia

Este índice permite conocer la naturaleza de las moléculas inorgánicas presentes en la pectina analizada, que para ambos casos indica alcalinidad, tal como se mencionó anteriormente.

3.2.8 Determinación del grado de esterificación (GE). Para la pectina extraída químicamente arrojó un valor de 81,48%. Este valor está definido por la relación que existe entre los residuos de ácido galacturónico metilesterificados con el total de unidades de ácido galacturónico presentes en la muestra de pectina. El número y distribución de los grupos éster metílicos a lo largo de la molécula juegan un papel importante en la solubilidad, propiedades de espesamiento, capacidad de gelificación, también sobre la firmeza y cohesión de las moléculas para la polimerización de biopelículas^{167 168}.

La pectina extraída enzimáticamente registró un grado de esterificación superior al presentado en la extracción química, probablemente por la presencia de grupos carboxilo esterificados con grupo etóxilos o amidas. No obstante, ambas pectinas están dentro del grupo de gelificación lenta, lo que indica que tienen propiedades favorables para la elaboración de productos, debido a su baja viscosidad¹⁶⁹.

Remplazando en la ecuación 9 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

Ecuación 43. Promedio para el GE de la pectina extraída químicamente

$$GE = \frac{\frac{23,4 \text{ mL} + 22,3 \text{ mL}}{2}}{\frac{5,6 \text{ mL} + 4,8 \text{ mL}}{2} + \frac{23,4 \text{ mL} + 22,3 \text{ mL}}{2}} * 100\% = 81,48\%$$

Fuente: elaboración propia

¹⁶⁷ FENNEMA, O., Química de los alimentos. En: Introducción a la química de los alimentos. [en línea]. 3ª Ed. Zaragoza, España: Acribia, 2003, [citado 03 febrero 2019]. Disponible en: <https://scea.files.wordpress.com/2014/05/quc3admica-de-los-alimentos-fennema.pdf>. p. 1095.

¹⁶⁸ BADUI, Salvador. Química de los Alimentos. [en línea]. 4ª Ed. México, Pearson Addison Wesley, ISBN 970-26-0670-5. 2006. [citado el 12 de febrero de 2019]. p. 716. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf. p. 716.

¹⁶⁹ VRIESMANN, Lúcia, TEÓFILO, Reinaldo, DE OLIVEIRA, Carmen. Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. LWT [en línea]. 2012 .49(1). [consultado 13 septiembre 2018]. p. 110.

Ecuación 44. Promedio para el GE de la pectina extraída enzimáticamente

$$GE = \frac{\frac{9,1 \text{ mL} + 4,3 \text{ mL}}{2}}{\frac{1,2 \text{ mL} + 1,1 \text{ mL}}{2} + \frac{9,1 \text{ mL} + 4,3 \text{ mL}}{2}} * 100\% = 85,35\%$$

Fuente: elaboración propia

3.2.9 Determinación del ácido anhídrido galacturónico. El valor 17,58%, corresponde a la pectina extraída químicamente. Este valor relativamente bajo, puede deberse a que el método convencional se desarrolla bajo condiciones de pH ácido, estado que favorece la metoxilación de los grupos carboxilo de las cadenas.

Este comportamiento se observa en otras caracterizaciones de pectina y concuerda con los valores obtenidos por algunos autores bajo condiciones similares de experimentación¹⁷⁰.

El porcentaje registrado a partir de la caracterización de la pectina extraída enzimáticamente, corresponde a un valor de 17,59%, valor igual al registrado mediante el método químico. Ambos resultados, permiten verificar que la sustancia péctica, posee un grado de pureza relativamente bajo, esto en referencia al rango establecido por la bibliografía en experimentaciones con extracciones químicas¹⁷¹.

La pectina obtenida presenta un porcentaje de bajo metoxilo lo que se relaciona con que menos del 50% de los grupos carboxilo del ácido galacturónico del polímero se encuentren esterificados por el etanol al momento de realizar la precipitación. Debido a que ambos resultados son bajos, es posible determinar que existe la presencia de azúcares como glucosa y arabinosa¹⁷².

Dado este comportamiento, utilizando la pectina obtenida, es posible desarrollar geles entre pH ácidos. Sin embargo, para la formación de biopelículas deberá existir la presencia de cationes, los cuales formarán enlaces con moléculas de pectina formando una red tridimensional con los grupos carboxilo de la pectina^{173 174}.

Remplazando en la ecuación 10 los valores conseguidos durante la experimentación, se obtienen los cálculos presentados a continuación.

¹⁷⁰ LIU, L., CAO, J., CAI, Y., YAO., J. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology*, [en línea]. 2010. 101(9). [consultado en 22 marzo 2019]. p. 3270.

¹⁷¹ VRIESMANN. Op. cit., p. 110.

¹⁷² *Ibíd.*, p. 111.

¹⁷³ BADUI D. Op., cit., p. 716.

¹⁷⁴ FERREIRA. Op. cit., p. 25.

Ecuación 45. Promedio para el AAG de la pectina extraída químicamente

$$\%AAG = \frac{176 * 100 - \left(\frac{(5,6 \text{ mL} + 4,8 \text{ mL})}{2} + \frac{(23,4 \text{ mL} + 22,3 \text{ mL})}{2} \right) * 0,5 \text{ N}}{1000 \text{ mg}}$$

$$= 17,58\%$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 46. Promedio el AAG de la pectina extraída enzimáticamente

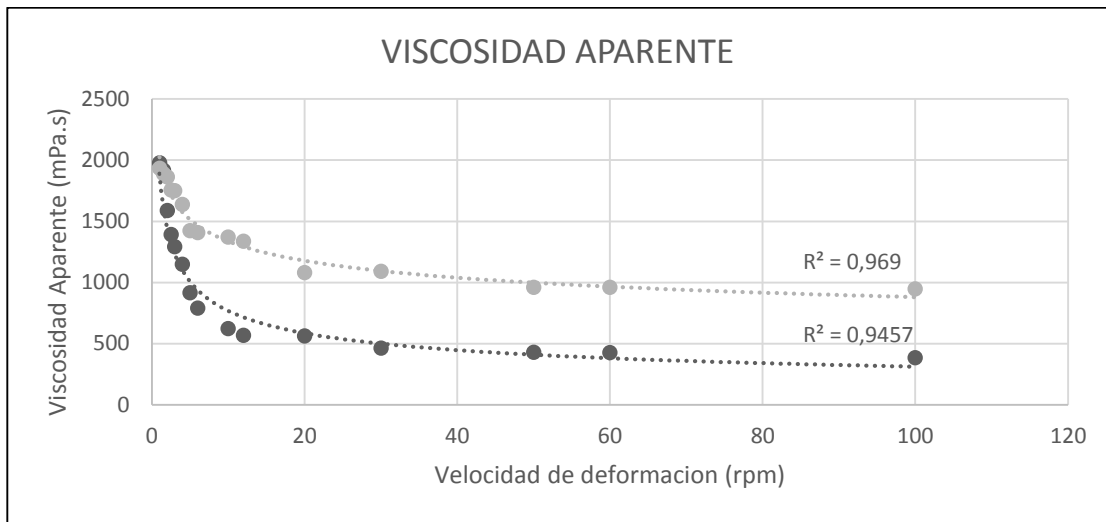
$$\%AAG = \frac{176 * 100 - \left(\frac{(1,2 \text{ mL} + 1,1 \text{ mL})}{2} + \frac{(9,1 \text{ mL} + 4,3 \text{ mL})}{2} \right) * 0,5 \text{ N}}{1000 \text{ mg}}$$

$$= 17,59\%$$

Fuente: elaboración propia

3.2.10 Determinación de la viscosidad aparente.

Gráfica 5. Perfil de viscosidad aparente



Fuente: elaboración propia

De acuerdo con los perfiles de viscosidad aparente presentados en el gráfico anterior, para las pectinas analizadas, la viscosidad aparente máxima y mínima, evaluadas entre 1 y 100 rpm, de la pectina extraída enzimáticamente de la cáscara de la naranja valenciana fue de 1978,8 mPa.s y 384,7 mPa.s, respectivamente, mientras que, para la pectina extraída químicamente, la viscosidad aparente máxima fue de 1933,9 mPa.s y mínima de 945,3 mPa.s.

De acuerdo con los resultados, se determina que el poder de gelificación de ambas pectinas es bajo en comparación al de una pectina comercial, puesto que los valores de viscosidad aparente para una pectina comercial registran máximos de 7616,1 mPa.s y mínimos de 2019,1 mPa.s¹⁷⁵. A pesar de lo anterior, cabe resaltar que la pectina extraída enzimáticamente posee menor poder de gelificación en comparación con la pectina extraída químicamente, estas diferencias dentro de los valores registrados, podrían remitirse al grado de esterificación y de metoxilo correspondiente a cada pectina evaluada.

La relación directa de estos dos factores influye en la viscosidad de la pectina empleada, dado que esta se ve afectada por la estructura molecular de la pectina y la cantidad de grupos carboxilo esterificados dentro de la pectina¹⁷⁶.

En ambos casos evaluados, la viscosidad aparente presentó el comportamiento de fluido no newtoniano, dado que su perfil de comportamiento se ajusta al de un tipo exponencial decreciente, cuyas ecuaciones se presentan a continuación:

Ecuación 47. Ecuación exponencial de la pectina extraída químicamente

$$y = 2025,7x - 0,181$$

Fuente: elaboración propia

Ecuación 48. Ecuación exponencial de la pectina extraída enzimáticamente

$$y = 1890,3x - 0,391$$

Fuente: elaboración propia

Donde el eje Y, corresponde a la viscosidad aparente en mPa.s y X indica la velocidad del husillo en rpm.

El modelo para la pectina extraída químicamente, presenta un coeficiente de determinación por encima del 0,96, demostrando una buena correlación de los datos experimentales por medio del modelo empleado. Sin embargo, el modelo para la pectina extraída enzimáticamente, registra un valor de 0,94, este valor podría indicar la presencia de errores en las mediciones que se podrían atribuir a

¹⁷⁵ MENDOZA. Op. cit., p. 138.

¹⁷⁶ RAO, Anandha. Flujo y modelos funcionales para las propiedades reológicas de alimentos fluidos. En: Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods. [en línea]. 3a Ed. Boston, USA: Springer US, 2014. [citado el 12 de febrero 2019]. Disponible en: <http://doi.org/10.1007/978-1-4614-9230-6>. p. 50.

factores como la falta de control de temperatura de la muestra en el momento de la medición y la dilución incompleta de la pectina evaluada dentro de la solución de medición. A pesar del error presentado, ambos modelos permiten observar que la viscosidad disminuye al aumentar la fuerza de rotación, propiedad característica de los fluidos pseudoplásticos¹⁷⁷.

Sintetizando los resultados expuestos en el presente capítulo, resulta pertinente mencionar que no se logran evidenciar diferencias representativas en relación a las propiedades fisicoquímicas, de la pectina extraída de la cáscara de la naranja que estén ligadas al método de extracción empleado. Lo anterior indica que, el método enzimático propuesto en el capítulo 1, es comparable con la hidrólisis ácida convencional. Sin embargo, el método propuesto registra un menor porcentaje de rendimiento, el cual podría estar asociado al tiempo de reacción y otros factores importantes como temperatura y pH; factores que no resultan de mayor relevancia en la extracción química.

Independientemente del método empleado para la extracción, se obtiene una pectina con características similares, dentro de las cuales se destacan: el bajo índice de metoxilación, que indica un bajo poder de gelificación, lo que favorece la producción de una biopelícula. Adicionalmente, ambas pectinas presentan altos porcentajes en el grado de esterificación lo que permite confirmar la baja velocidad de gelificación de las mismas, así como también su baja viscosidad. Esta última propiedad, corrobora que las pectinas son favorables para la elaboración de distintos productos.

Finalmente, el espectro de IR permite confirmar que, utilizando los métodos de extracción estudiados, realmente se obtiene pectina con alto índice de pureza, dado que el espectro obtenido experimentalmente se asemeja al espectro de una pectina planteado teóricamente. Es posible verificar lo anterior, gracias a las bandas generadas a $1732,08\text{ cm}^{-1}$, $1610,56$, $1643,35\text{ cm}^{-1}$ y $1000-1300\text{ cm}^{-1}$, las cuales son características particulares para este producto.

3.3 OBTENCIÓN DE LAS BIOPELICULAS

3.3.1 Síntesis de las biopelículas. La interacción entre las materias primas utilizadas para la elaboración de la biopelícula se encuentra ligada a la estructura cristalina del almidón, teniendo en cuenta que el almidón en su estado nativo está parcialmente compuesto de gránulos cristalinos insolubles en agua. Estos polímeros tienen la forma lineal (amilosa) y ramificada (amilopectina), con diferentes estructuras y funciones¹⁷⁸. Muchas moléculas de amilosa tienen algunas

¹⁷⁷ CHASQUIBOL. Op., cit., p. 183.

¹⁷⁸ TRUJILLO, Cinthya. Obtención de películas biodegradables a partir de almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) doblemente modificado para uso en empaque de alimentos [en línea]. Tesis de ingeniería agroindustrial. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, 2014. [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/UNAMAD/65/004-2-1-013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. p.7.

ramificaciones, aproximadamente entre 0,3 a 0,5% del total de los enlaces. Estas generalmente, no son ni muy largas ni muy cortas y están separadas por grandes distancias permitiendo a las moléculas actuar, esencialmente con un polímero lineal, formando películas y fibras fuertes, y retrogradado fácilmente¹⁷⁹. Lo anterior indica que, ocurre una reorganización de los puentes de hidrógeno y una reorientación de las cadenas moleculares volviendo a su estado inicial, este proceso se retarda mediante modificaciones químicas y enzimáticas¹⁸⁰.

Por otro lado, la pectina es adicionada dentro las formulaciones realizadas, debido a que, como enuncia el autor Vogelsang, D. en su tesis de grado denominada Análisis del flujo de un biopolímero soluble en agua durante el procesamiento por moldeo y análisis de las propiedades de las películas resultantes, resulta ser un material funcional para la formación de películas plásticas¹⁸¹.

El almidón de yuca permite desarrollar productos plásticos biodegradables en combinación con agua y glicerol, que le confieren propiedades plásticas, las cuales, junto con condiciones de presión y temperatura, permiten modificar la estructura cristalina formando un almidón termoplástico TPS¹⁸². Con base en lo anterior, es posible afirmar que la adición de glicerina como plastificante, confiere a las películas mayor afinidad por las moléculas de agua debido a su carácter hidrofílico^{183 184}.

Frente a los polímeros plásticos corrientes, el almidón termoplástico presenta desventajas tales como: su solubilidad en agua, alta higroscopicidad, envejecimiento rápido debido a la retrogradación y pobres propiedades mecánicas, lo cual limita algunas aplicaciones tales como empaque. Estos problemas se han reducido cuando se incorporan en la matriz termoplástica rellenos naturales como polvo de naranja, que sirven como material de refuerzo para mejorar las propiedades mecánicas^{185 186 187}.

¹⁷⁹ GARCIA. Op. cit., p. 2.

¹⁸⁰ MENESES, Juliana., CORRALES, Catalina., VALENCIA, Marcos. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. [en línea]. 2007. (8). [consultado 13 de octubre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372007000200006. p. 60.

¹⁸¹ VOGELSANG, David. Análisis del flujo de un biopolímero soluble. [en línea]. Tesis para Magister en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, 2013 [consultado 9 septiembre 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/11096/1/02822326.2013.pdf>. p. 9.

¹⁸² LUNA, Op., cit., p. 149.

¹⁸³ LAOHAKUNJIT, Natta., NOOMHORM, Athapol. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Stärke*, [en línea]. 2004, 56 (8). [consultado en 22 marzo 2019]. DOI: doi.org/10.1002/star.200300249. p.348–356.

¹⁸⁴ MINA, José., VALADEZ, Alex., HERRERA, Pedro., TOLEDANO, Tanit. Influencia del tiempo de almacenamiento en las propiedades estructurales de un almidón termoplástico de yuca (TPS) [en línea]. 2011. 11(2) [consultad 22 de noviembre 2018]. Disponible en: http://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/article/download/2461/3211.p. 99.

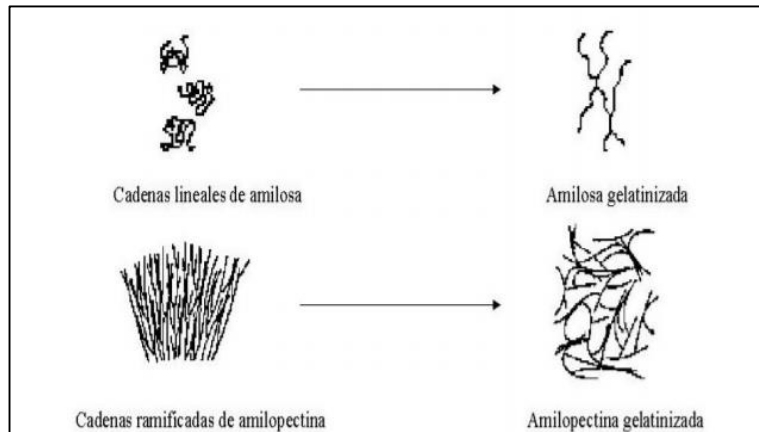
¹⁸⁵ AVÉROUS, L., FRINGANT, C., MORO, L., Plasticized starch–cellulose interactions in polysaccharide composites [en línea]. 2001. 42(19) [consultado 15 mayo 2019]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00125-2](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00125-2). p. 6568.

¹⁸⁶ CURVELO, A., CARVALHO, A., AGNELLI, J. Thermoplastic starch–cellulosic fibers composites: preliminary results. [en línea]. 2001. 45 (2). *Carbohydrate Polymers*. [consultado 13 de marzo 2019]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00314-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00314-3). p. 187.

¹⁸⁷ VERA, A., BERNAL, C., VAZQUEZ A., Comportamiento mecánico de compuestos de celulosa modificada / almidón reforzada con fibras sisal cortas. En: Simposio de materiales (Mar del plata, Argentina). Memorias. Argentina: 2003, p.928.

En los métodos propuestos para la elaboración de las biopelículas, es posible que se lleve a cabo un proceso de gelatinización, en el cual, el agua penetra inicialmente en las regiones amorfas del almidón de yuca, iniciando el hinchamiento. Luego el agua desaloja las cadenas de almidón desde la superficie de los cristales a medida que la temperatura, la movilidad térmica de las moléculas y la solvatación producida por las fuerzas de hinchamiento provocan una disminución de la cristalinidad por el desenrollado de las ramificaciones en forma de dobles hélices propias del almidón. Dicho proceso ocurre hasta que la estructura granular es fragmentada casi completamente, obteniéndose un sólido-gel¹⁸⁸. Al alcanzar una temperatura determinada (60-65 °C para el almidón de yuca) el grano se rompe, por lo tanto, es un proceso irreversible. En la figura presentada a continuación, se muestran los cambios estructurales que tienen las moléculas de amilosa y amilopectina por la gelatinización¹⁸⁹.

Figura 16. Comportamiento de la amilosa y amilopectina tras la gelatinización



Fuente: BUENSUCESO, V. Elaboración y caracterización de biopelículas a partir de almidón de yuca. Instituto Politécnico Nacional, (2010). p. 44-48

La principal diferencia entre los materiales procesados de almidón termoplástico (TPS) es la cantidad de agua o plastificante durante la gelatinización o fusión de los gránulos de almidón. Las diferencias en el contenido de agua y glicerina y las condiciones del procesamiento tales como: la velocidad de agitación y temperatura producen diferencias en la formación de la red de almidón y en la morfología del material producido¹⁹⁰. Este fenómeno, es completamente apreciable entre los dos métodos de producción presentados a continuación.

¹⁸⁸ GARCIA. Op. cit., p. 25.

¹⁸⁹ RANDZIO, SL., ORLOWKA, M. Simultaneous and in situ analysis of thermal and volumetric properties of starch gelatinization over wide pressure and temperature ranges [en línea]. 2005. 6(6) [consultado 07 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16283725>. p. 3047.

¹⁹⁰ GARCIA. Op. cit., p. 2.

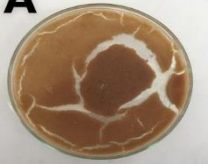
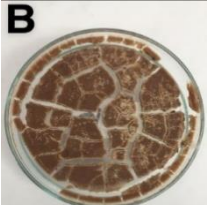
3.3.1.1 Método A para la producción de biopelículas. El método A, se estableció como experimentación preliminar. Fue empleado para el desarrollo de las formulaciones A, B, C y D, con resultados poco favorables según los requerimientos del proyecto, pues no se obtuvo un material uniforme, resistente y de consistencia polimérica.

Se obtuvo con las formulaciones A y C un material con pocas características poliméricas, pues presentaban una consistencia cremosa, lo que indicaba una falta de plastificante en la formulación.

Para las formulaciones B y D, las cuales contenían pectina dentro de su composición, se presentaron características plásticas, pues presentaban una consistencia rígida y frágil al tacto. Además, se observaba craquelación excesiva en todo el material. Estos resultados se atribuyen al exceso de materiales formadores de película en relación con la cantidad de plastificante, dado que, el comportamiento estructural del almidón y la pectina es similar en contacto con la glicerina¹⁹¹.

A pesar de los resultados obtenidos, estas formulaciones proporcionaron una base para el desarrollo de un nuevo método, teniendo en cuenta los referentes bibliográficos con modificaciones ajustadas a la matriz polimérica de polvo de naranja. Las características de dichos experimentos preliminares se presentan en la tabla a continuación.

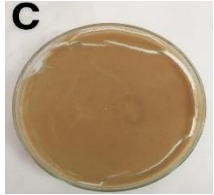
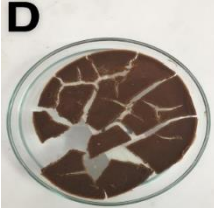
Cuadro 7. Resultados síntesis de biopelícula Método A

Fórm.	Observaciones	Resultados
A	Se observa una biopelícula de color café claro que no presenta craquelado. Al tacto se forma una masa viscosa y tactosa. Es maleable, cuando se dobla no se fractura. Al estirla se fractura fácilmente.	
B	La adición en pequeña proporción de pectina se refleja en el oscurecimiento de la biopelícula, se observa en esta ocasión de color café oscuro. Posee una textura granular y se fractura con facilidad al doblarse. Presenta notable craquelado. Alta rigidez.	

Fuente: elaboración propia

¹⁹¹ VOGELSANG. Op. cit., p. 9.

Cuadro 7. (Continuación)

Fórm.	Observaciones	Resultados
C	Se observa una biopelícula de color café claro que no presenta craquelado. Al tacto se forma una masa viscosa y tactosa. Es maleable, cuando se dobla no se fractura. Se percibe menos granulación que en la formulación A%. Tiene cierto grado de estiramiento antes de presentar fracturas.	
D	La adición de pectina se refleja en el oscurecimiento de la biopelícula, se observa en esta ocasión de color café oscuro brillante. Al tacto se presenta poca granulación y se fractura con facilidad al doblarse. Presenta menos craquelado y es más flexible que la presentada en la formulación B%.	

Fuente: elaboración propia



3.3.1.2 Método B para la producción de biopelículas. En la primera fase de este método se modificaron dos variables con respecto a las utilizadas en el método A: la cantidad de glicerina y pectina adicionadas. Para las formulaciones E y F se aumentó la cantidad de glicerina, llevándola desde 16% hasta un 20%. Lo anterior, posee su fundamento teórico en el artículo titulado Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca de los autores Cortés, J., Fernández, A., Mosquera, S. y Velasco, R., quienes al utilizar glicerina en esta proporción obtienen resultados favorables para su investigación.

Adicionalmente, se eliminó la pectina dentro de su composición y como resultado se obtuvieron dos materiales con características poliméricas cercanas a lo requerido en el proyecto. Cabe resaltar que, la formulación F presentó una mayor estabilidad con respecto a su apariencia plástica. Los resultados obtenidos se detallan en la tabla 22. De acuerdo a estos resultados, se observó una apariencia polimérica estable en la formulación F, la cual fue empleada para el desarrollo de nuevas formulaciones con presencia de pectina.

Dentro de las características a destacar de la formulación F, se presenta una uniformidad del material con presencia de algunos poros, los cuales pueden atribuirse al agua intentando salir de la superficie luego de moldear la película, debido a que la superficie en contacto con el ambiente es la primera zona en secarse¹⁹². Adicionalmente, posee propiedades elásticas y una leve adherencia a las superficies. Estas características, favorecen el objetivo final del material. Además, como se podrá ver en el apartado referente a la caracterización de las biopelículas, estas particularidades, no afectan el porcentaje de absorción de los materiales.

¹⁹² *Ibíd.*, p. 69.

Cuadro 8. Resultados síntesis de biopelícula Método B sin pectina

Fórm.	Observaciones	Resultados
E	Se observa una biopelícula de color café oscuro que presenta algunas fisuras. Al tacto se forma película gelatinosa y algo cremosa. Es maleable cuando se dobla, pero demasiado frágil. Al estirarla se fractura fácilmente.	E 
F	En esta ocasión la biopelícula no presenta fragmentación ni ruptura con el secado, es maleable y resistente a dobles y estiramientos leves, no presenta residuos de glicerina y es bastante elástica.	F 











Fuente: elaboración propia

Con base en la formulación F mencionada anteriormente, se realizaron las formulaciones G, H, I, J y K, las cuales conservan la relación de glicerina, carbonato de sodio, polvo de naranja y almidón de yuca. Sin embargo, estas varían entre sí de acuerdo al porcentaje de pectina enzimática presente en su composición. Dentro de estas formulaciones, la pectina se adicionó una vez la glicerina se encontraba caliente, de acuerdo a que teóricamente se plantea que las pectinas son solubles en glicerina caliente¹⁹³.

De acuerdo con la cantidad de pectina presente en cada formulación, se observaron características diferentes en el resultado final, las cuales se encuentran detalladas en la tabla a continuación.

¹⁹³ ACOSTA. Op. cit., p. 25.

Cuadro 9. Resultados síntesis de biopelícula Método B con pectina

Fórm.	Observaciones	Resultados
G	El material tomo una textura rígida y quebradiza, poco flexible. Adicionalmente se puede ver el exceso de glicerina presente en la muestra.	 
H	La muestra seca completamente y se solidifica por completo, posee consistencia rígida y frágil. Se evidencian grumos en la parte superior.	 
I	El material seco completamente, posee una consistencia gelificada con buenas características de elasticidad flexibilidad. No presenta craquelaciones ni grumos.	 
J	El material no secó completamente. Tiene propiedades de elasticidad y flexibilidad similares a la muestra I, sin embargo, es demasiado húmeda.	 
K	El resultado es muy similar a la muestra J, aunque la cantidad de pectina presente en esta muestra es demasiado pequeña casi nula por lo que no es representativa.	 

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con los resultados obtenidos expuestos en la tabla anterior, es posible atribuir la diferencia en su apariencia al porcentaje de pectina empleado para cada formulación. Según con la teoría, la pectina posee una estructura cristalina que, en contacto con un plastificante, permite la re acomodación de las partículas generando una nueva estructura con propiedades poliméricas elásticas y estables¹⁹⁴.

Como se observa en las formulaciones G y H, los porcentajes de pectina son de 2% y 1% respectivamente. Esta alta adición de pectina, resulta en un exceso de materiales formadores de película en relación al porcentaje de plastificante, lo que

¹⁹⁴Ibid., p. 25.

genera materiales con consistencia ligeramente rígida, poco flexible y con la aparición de aglomeraciones de pectina en su superficie. Esta rigidez puede atribuirse a aspectos propios de su composición, debido a que, al contener una mayor proporción de pectinas de bajo metoxilo, estas condiciones pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca^{2+} , generando una red con mayor resistencia a la deformación¹⁹⁵.

Las formulaciones posteriores se desarrollaron con porcentajes de pectina inferiores al 1%, de acuerdo con lo observado anteriormente, por lo que las formulaciones I, J y K, presentan en su composición porcentajes de pectina de 0,5%, 0,1% y 0,4% respectivamente. Con esta modificación, se observan en los materiales, propiedades muy similares entre sí acordes con las de la formulación F. Dentro de estas características se destacan la alta estabilidad visual, uniformidad en la superficie y una alta apariencia elástica y flexible. A pesar de las similitudes, la formulación I es la más favorable para el desarrollo de la caracterización dado que posee mayor porcentaje de pectina en su composición, sin afectar la estabilidad del material, lo que favorece la absorción del material como se verá reflejado en el apartado de caracterización.

3.3.2 Resultados de pruebas de caracterización.

3.3.2.1 Brillo especular de películas plásticas según la ASTM 2457-03. Los resultados obtenidos tras la aplicación de la ASTM 2457-03 a las biopelículas sin pectina y con pectina extraída enzimáticamente se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 11. Resultados prueba de brillo

Biopelícula	Unidades de brillo (gu)	Media	DE
Sin pectina	3,3	--	
	3,4	3,3	0,2
	1,9	2,9	0,8
	2,6	2,7	0,6
	3,1	2,4	0,6
	2,2	--	--
	2,3	2,2	0,2
Pectina enzimática	1,9	2,1	0,2
	2,2	2,1	0,2
	2,2	2,2	0,2

Fuente: elaboración propia

¹⁹⁵ ÁLVAREZ, Cristina., FERNÁNDEZ, Alejandro. Efecto del Proceso de Cocción Sobre la Firmeza de Plátanos Hartón y Guayabo [en línea]. 2014. 2 [consultado 13 mayo 2019]. p. 115.

Los valores registrados en ambas biopelículas corresponden a una media de 2,4 GU y 2,2 GU respectivamente, siendo menores en comparación con películas de almidón de maíz, los cuales se encuentran entre 73 y 56 GU¹⁹⁶. No obstante, es importante resaltar que los parámetros de brillo solo pueden compararse cuando la prueba se realiza bajo las mismas condiciones¹⁹⁷. De acuerdo con la desviación estándar entre los datos, es posible afirmar que, no hubo diferencias significativas entre los resultados registrados, lo que indica que no hay pérdida de brillo en la película y que su superficie es uniforme a lo largo de todo el material.

Además, es observable que ocurrió una leve disminución por la retrogradación que genera reorganización molecular dando lugar a una cristalización especialmente de la amilosa, lo que induce a un aumento de la rugosidad en la superficie de la película¹⁹⁸. Lo anterior influye directamente en la dispersión de la luz¹⁹⁹, ya que cuanto mayor sea la rugosidad de la superficie menor será el brillo²⁰⁰.

Según estos resultados, es posible concluir que el material absorbe la mayor cantidad de luz que incide en su superficie, siendo así, un material opaco con una superficie rugosa y porosa.

3.3.2.2 Poder de absorción de las biopelículas. En un principio para este apartado del proyecto se había establecido el desarrollo de la prueba de permeabilidad al vapor de agua según la ASTM-E96. Sin embargo, la metodología de esta prueba, implica un sellado del material. Persiguiendo este fin, se debe adicionar sobre el material a analizar, cera microcristalina 9 (60%), mezclada con cera de parafina cristalina refinada (40%) a una temperatura de 80°C²⁰¹. En una prueba preliminar realizada en el laboratorio, se sometieron las biopelículas a dicha temperatura. Se observó que, bajo esta condición, el material se deshace y se quema, tal como se observa en la figura presentada a continuación.

¹⁹⁶ JÍMENEZ, Alberto., FABRA, Maria., TALENS, Pau., CHIRALT, Amparo. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids [en línea]. 2012. 26(1). [consultado 06 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11001834> p. 301.

¹⁹⁷ AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D2457: Specular Gloss of Plastic Films and Solid Plastics. Pennsylvania (USA): 2008, 6 p. [consulta: 25 mayo 2019].

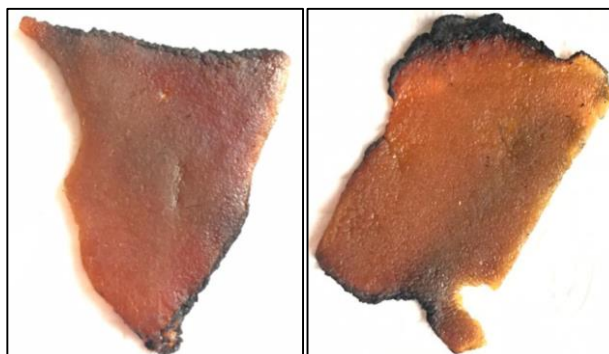
¹⁹⁸ VAN. Jeroen., VLIEGENTHART, Johannes. Crystallinity in starch plastics consequences for material properties [en línea]. 1997. 15(6). [consultado 13 septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779997010214>. p. 210.

¹⁹⁹ JÍMENEZ. Op. cit., p. 304.

²⁰⁰ VILLALOBOS, Ricardo., CHANONA, Jorge., HERNÁNDEZ, Pilar., GUTIÉRREZ, Gustavo. CHIRALT, Amparo. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure [en línea]. 2005. 19(1) [consultado 07 septiembre 2018]. p. 52.

²⁰¹ AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM E96: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Pennsylvania (USA): 2005, 12 p. [consulta: 25 mayo 2019].

Figura 17. Biopelícula CP y SP respectivamente tras la prueba de T



Fuente: elaboración propia

Por lo anterior, no fue posible la realización de la prueba inicialmente contemplada. Teniendo en cuenta que, la propiedad más importante de las biopelículas es la capacidad de absorción de agua, se recurrió a aplicarles la NTC 1772 como remplazo de la prueba anteriormente mencionada. En la tabla presentada a continuación, se evidencian los resultados obtenidos para las biopelículas analizadas (sin pectina y con pectina extraída enzimáticamente), tras realizar la prueba denominada poder de absorción de las biopelículas.

Tabla 12. Resultados prueba de absorción de las biopelículas estudiadas

Biopelícula	Peso biopelícula (g)	Agua destilada (mL)	Recipiente vacío (g)	Peso al tiempo final (g)	% Absorción/g
Sin pectina	5,64	10	43,9	52,4	50,7
Pectina enzimática	5,68	10	45,6	56,3	88,6

Fuente: elaboración propia

De los resultados presentados en la tabla anterior, es posible discutir que ambas biopelículas realizadas tienen una alta capacidad de absorción debida en gran medida a que dentro de su matriz contienen almidón de yuca, el cual, en composición pura, por si solo tiene una capacidad de retención de agua de 226% tal como reporta la teoría²⁰². Además, esta propiedad se ve favorecida por la adición de cáscara de naranja. Lo anterior, teniendo en cuenta que el tamaño de partícula utilizado para la fabricación de estas biopelículas fue de 149 μm , el cual como se mencionó a lo largo del capítulo 1 del proyecto en cuestión tiene un poder de absorción de 661,2% es decir, que tiene el poder de absorber 661,2 veces su peso en agua.

²⁰² GRANADOS, C., GUZMÁN, L., ACEVEDO, D., DÍAZ, M., HERRERA, A. Propiedades funcionales del almidón de MAGU. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria, [en línea]. 2014, 12 (2). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a10.pdf>. p.96.

En cuanto a la adición de pectina se refiere, como era de esperarse, favorece la capacidad de absorción de la biopelícula debido a que es un hidrato de carbono que forma parte de la fibra soluble. Este tipo de fibra se caracteriza porque en contacto con el agua, forma un retículo en el que el agua queda atrapada, es decir, es absorbida²⁰³. Lo anterior indica que, la pectina es un polisacárido que absorbe gran cantidad de agua y es un producto tecnológicamente funcional de interés para la industria²⁰⁴.

La adición de 0,5% de pectina extraída enzimáticamente de la cáscara de naranja aumenta en un 37,9% el poder de absorción de la biopelícula, lo que resulta representativo. De esta manera, se comprueba la funcionalidad de extraer pectina, teniendo en cuenta que, además, esta se puede emplear en la producción de plásticos y como material para la absorción de contaminantes de efluentes industriales líquidos; lo que demuestra el potencial y las aplicaciones futuras que se esperan de la pectina²⁰⁵.

3.3.2.3 Propiedades de tensión de plásticos según la ASTM 638-14. En primer lugar, cabe resaltar que la ASTM D638-14 reemplaza a la ASTM D882-10/02, debido a que esta última establece el método para la determinación de propiedades de tensión de película plásticas delgadas con un espesor menor a 1mm²⁰⁶. El mínimo espesor obtenido para las películas desarrolladas a lo largo de este proyecto fue de 2 mm. Este espesor se encuentra dentro de lo acogido por la ASTM D638-14, bajo la cual se pueden evaluar biopelículas en forma de láminas de hasta 14 mm de espesor²⁰⁷.

Las dimensiones de las probetas se establecieron en 2 mm para el espesor, 6 mm para el ancho y 33 mm para la longitud de la sección estrecha de acuerdo a lo especificado en la norma. Según el literal seis de la norma, relacionado a las muestras de prueba, las biopelículas corresponden a plásticos no rígidos. Adicionalmente, al poseer un espesor inferior a 4 mm, el espécimen tipo IV, es el que se debe utilizar. Las especificaciones de la probeta tipo IV, se presentan en la figura y la tabla a continuación.

²⁰³CONSUMER [sitio web]. CONSUMER, La pectina de manzana. [consulta: 18 marzo 2019]. Disponible en: http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2004/07/22/106239.php

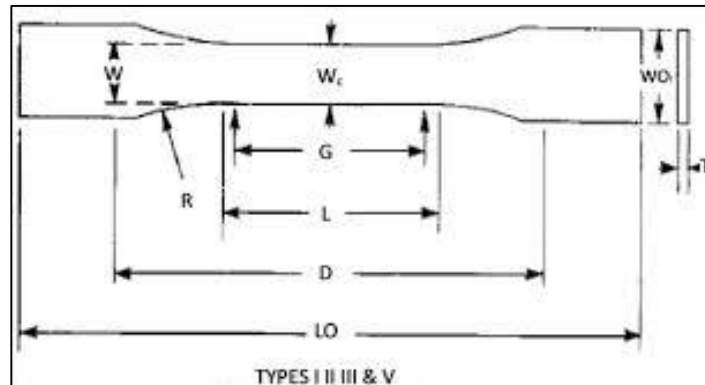
²⁰⁴ URANGO, Katty., ORTEGA, Fabián., VÉLEZ, Gabriel., PÉREZ, Omar. Extracción rápida de pectina a partir de cáscara de maracuyá (*passiflora edulis flavicarpa*) empleando microondas [en línea]. 2018. 29(1). [consultado 22 febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642018000100129&Ing=en&tlng=eyn p.131.

²⁰⁵ CHASQUIBOL, Op., cit., p.180.

²⁰⁶ AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM 882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin plastic sheeting. Pennsylvania (United States): 2010, 10 p. [consulta: 25 mayo 2019].

²⁰⁷ AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D638. Op., cit., p. 5.

Figura 18. Probeta tipo IV



Fuente: AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D638: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. Pennsylvania (United States): 2010, 16. p.4.

cuadro 10. Dimensiones probeta tipo IV

Dimensions (see drawings)	4 (0.16) or under	
	Type IV ^B	Type V ^{C,D}
<i>W</i> —Width of narrow section ^{E,F}	6 (0.25)	3.18 (0.125)
<i>L</i> —Length of narrow section	33 (1.30)	9.53 (0.375)
<i>WO</i> —Width overall, min ^G	19 (0.75)	...
<i>WO</i> —Width overall, min ^G	...	9.53 (0.375)
<i>LO</i> —Length overall, min ^H	115 (4.5)	63.5 (2.5)
<i>G</i> —Gage length ^I	...	7.62 (0.300)
<i>G</i> —Gage length ^I	25 (1.00)	...
<i>D</i> —Distance between grips	65 (2.5) ^J	25.4 (1.0)
<i>R</i> —Radius of fillet	14 (0.56)	12.7 (0.5)
<i>RO</i> —Outer radius (Type IV)	25 (1.00)	...

Fuente: AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D638: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. Pennsylvania (United States): 2010, 16. p.4.

El diseño y corte de las probetas, se realizaron en el departamento de diseño del Tecnoparque del SENA, nodo Bogotá. En la figura a continuación se presentan las probetas sometidas al ensayo, tras su diseño en ILLUSTRATOR y su corte a láser.

Figura 19. Probetas de biopelícula con y sin pectina respectivamente



Fuente: elaboración propia

En las siguientes figuras se muestran la instalación de una de las probetas y su comportamiento al finalizar el ensayo.

Figura 20. Izquierda: Instalación de la Probeta. Derecha: Probeta ensayada



Fuente: elaboración propia

Figura 21. Izquierda: Probeta antes del ensayo. Derecha: Probeta ensayada



Fuente: elaboración propia

En la siguiente tabla se muestra los resultados obtenidos durante el ensayo a Tensión.

Tabla 13. Resultados de propiedades de tensión de biopelículas

Muestra	Fuerza Máxima (N)	Desplazamiento a Fuerza Máxima (mm)	Esfuerzo a Fuerza Máxima σ_T (MPa)	Deformación a Fuerza Máxima (%)	Módulo de elasticidad E_T (MPa)
SP - 1	0,5816	35,2610	0,0485	106,8520	0,03999
SP - 2	0,5359	34,2630	0,0447	103,8270	0,03546
SP - 3	0,5050	33,5640	0,0421	101,7090	0,03314
SP - 4	0,4506	31,9810	0,0376	96,9121	0,02865
SP - 5	0,6031	40,3150	0,0503	122,1670	0,03444
Promedio	0,5353	35,0768	0,0446	106,2930	0,03434
DE	0,0609	3,1626	0,0051	9,5837	0,00409
CP - 1	0,5491	39,6985	0,0458	120,2980	0,03003
CP - 2	0,5428	40,8605	0,0452	123,8200	0,02714
CP - 3	0,4338	34,4960	0,0362	104,5330	0,02619
CP - 4	0,6791	40,4065	0,0566	122,4440	0,04028
CP - 5	0,5341	34,7355	0,0445	105,2590	0,03602
Promedio	0,5478	38,0394	0,0457	115,2710	0,03193
DE	0,0873	3,1538	0,0073	9,5571	0,00604

Fuente: UNIVERSIDAD NACIONAL. Laboratorio de ensayos Mecánicos.

La resistencia que determina la norma ASTM D-638 para plásticos es de 14 a 140 MPa. Por consiguiente, las biopelículas SP y CP elaboradas, presentaron una

resistencia a la tensión promedio de 0,0446 y 0,0457 respectivamente. En ambos casos, los valores no cumplen la norma; lo cual lleva a concluir que las propiedades físicas del bioplástico producido en el laboratorio son deficientes en comparación con los plásticos comerciales²⁰⁸. Este fenómeno podría estar atribuido a la formación de acumulaciones de almidón y pectina en puntos específicos de la matriz termo plastificada, que no favorecen su desempeño mecánico²⁰⁹. Lo anterior, teniendo en cuenta que la rigidez de los gránulos de almidón genera puntos críticos de concentración de esfuerzos los cuales provocan la falla del material bajo tensión²¹⁰.

Los valores reportados en la tabla para esfuerzo a fuerza máxima, son valores menores con respecto a los materiales evaluados por Cortes, Fernández, Mosquera y Velasco, los cuales reportan valores superiores a los 1,85 MPa para bioplásticos elaborados con almidón de yuca y reforzados con fibra de fique ²¹¹. Lo anterior, puede atribuirse a la humedad absorbida por la película a partir del momento de su producción, debido a que se afectan las propiedades físicas, mecánicas y de barrera, esto en relación a la naturaleza hidrofílica del almidón, que causa una disminución en el esfuerzo e incremento en la elongación, dado que el agua absorbida actúa como un plastificante que incrementa la movilidad de la cadena polimérica²¹².

De igual forma, el comportamiento mecánico de los materiales de este estudio fue inferior a los bioplásticos obtenidos por Navia, Villada y Ayala²¹³. Estos investigadores reportaron valores entre 1,8 y 3,5 MPa (σ_T), y 366,7 MPa (E_T) en muestras fabricadas con almidón de yuca, glicerina y fique por termo-compresión. Este comportamiento puede ser atribuido al uso de almidón gelatinizado previo al procesamiento del bioplástico por la técnica de termo-compresión, la cual, favorece la adherencia de los componentes en el material, potenciando su resistencia ante los esfuerzos mecánicos ejercidos²¹⁴. Luo, Li y Lin dentro de su investigación, argumentan que el uso del almidón gelatinizado promueve la adhesión interfacial

²⁰⁸ GARCIA. Op. cit., p. 2.

²⁰⁹ NAVIA. Op. cit., p. 42.

²¹⁰ VALERO, Manuel., ORTEGÓN, Yamileth., USCATEGUI, Yomaira. Biopolímeros: Avances y perspectivas [en línea].2013. 80(181) [consultado 22 marzo 2019], Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532013000500019&lng=en&tlng=en p.173.

²¹¹ CORTES, José., FERNÁNDEZ, Amanda., MOSQUERIA, Silvio., VELASCO, Reinaldo. Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial [en línea]. 2014. 12 (1). [consultado 10 de febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612014000100011&script=sci_abstract&tlng=es. p. 90.

²¹² MALI, S., SAKANAKA, L., YAMASHITA, F. GROSSMANN, V. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. Carbohydrate Polymers, [en línea], 2005. 60(3). [consultado en 29 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861705000214>. p.286.

²¹³ NAVIA, Diana., VILLADA Héctor., AYALA Alfredo. Evaluación mecánica de bioplásticos semirrígidos elaborados con harina de yuca [en línea]. 2013. Ed especial No. 2 [consultado: 16 julio 2019]. p. 79.

²¹⁴ CORTES., Op., cit., p.44.

entre los componentes de la matriz termoplástica favoreciendo sus propiedades funcionales²¹⁵.

Adicionalmente, en relación a la teoría planteada, el porcentaje de plastificante utilizado dentro de la formulación, en este caso glicerina, influye en las propiedades mecánicas del material. Estudios previos, demuestran una relación inversa entre las propiedades mecánicas del polímero y la cohesividad, afectando la cristalinidad y otras propiedades de las películas²¹⁶.

Por otro lado, existen materiales comerciales utilizados como apósitos, que poseen propiedades mecánicas similares a las biopelículas elaboradas en esta investigación. En primer lugar, se encuentra Aquacel®, que es un apósito de hidrofibra de hidrocoloide, blando, de forma plana, fibroso, compuesto por fibras de carboximetilcelulosa sódica, de tacto suave²¹⁷. Este posee una resistencia a la tensión de 0,044 MPa²¹⁸, valor que resulta comparable con los resultados obtenidos dentro de la investigación (0,0446 y 0,0457 MPa).

Asimismo, las biopelículas, presentan una resistencia mecánica superior a la gasa, pues se reportan valores promedios de 0,038 MPa²¹⁹ para este apósito convencional.

Adicionalmente, existen apósitos de alginato, que están formados por un polisacárido natural derivado de la sal de calcio del ácido algínico (proveniente de las algas marinas)²²⁰. Su resistencia mecánica (0,003 MPa)²²¹ resulta inferior, con respecto a los valores obtenidos para las biopelículas fabricadas.

A pesar de los resultados mencionados anteriormente, las dos biopelículas analizadas, presentan propiedades mecánicas similares entre sí, es decir, la adición de pectina no modifica las características mecánicas del material, esto debido a que en las formulaciones evaluadas existe la misma cantidad de material formador de película (almidón de yuca y polvo de naranja), al igual que la misma cantidad de

²¹⁵ LUO, Xuegang., LI, Jiwei., LIN Xiaoyan. Efecto de la gelatinización y los aditivos en la morfología y el comportamiento térmico de las películas de mezcla de almidón de maíz/PVA [en línea]. 2012. 90(4) [consultado: 16 julio 2019]. p. 1596.

²¹⁶ LAOHAKUNJIT., Op., cit., p.352.

²¹⁷ HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS. AQUACEL ® Apósito de Hydrofiber. En: Hospital Universitario de Asturias [sitio web]. Oviedo [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: http://www.hca.es/huca/web/enfermeria/html/f_archivos/FICHAS/AQUACEL.pdf. p. 2.

²¹⁸ *Ibíd.*, p.4.

²¹⁹ *Ibíd.*, p.4.

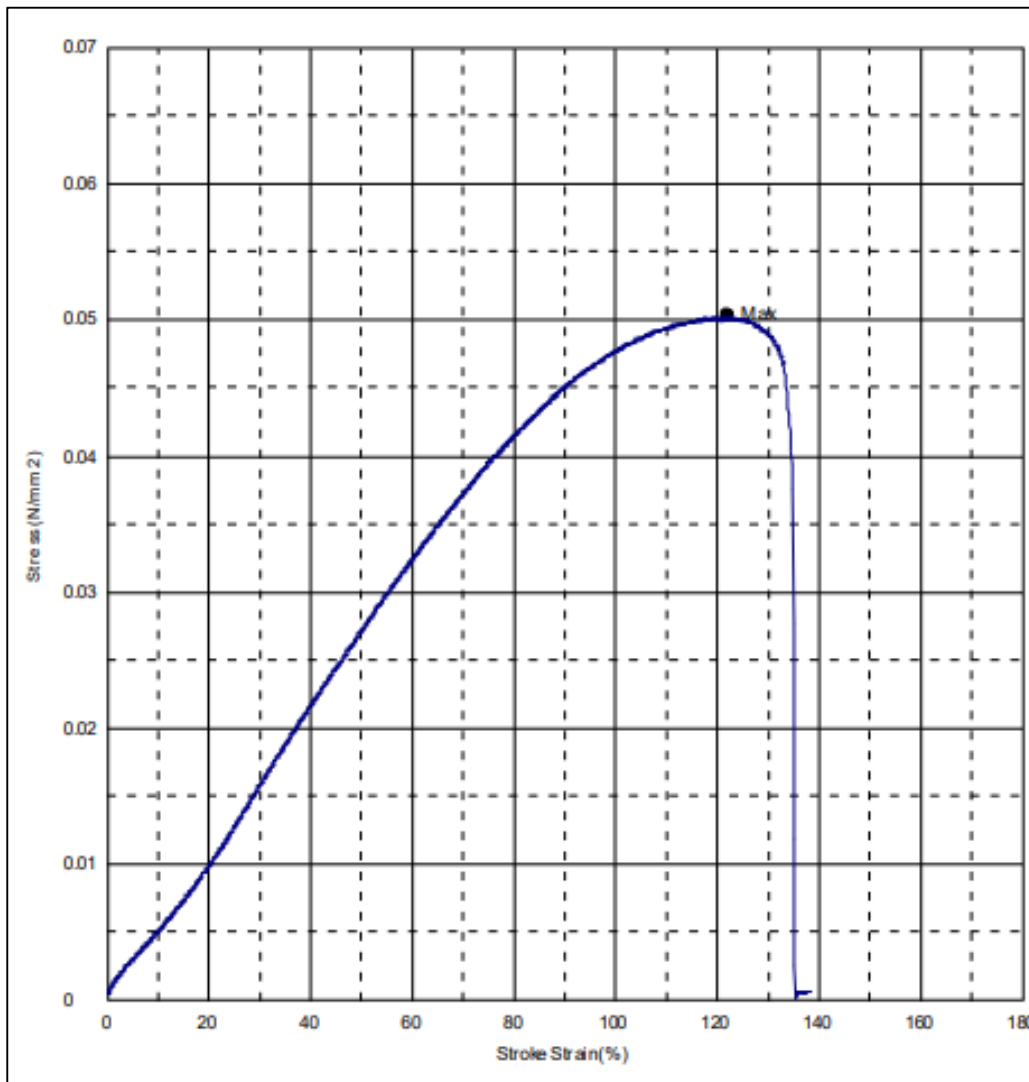
²²⁰ PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE [sitio web]. Procedimientos de curación, apósitos o cobertura [consultado: 16 julio 2019]. Disponible en: <http://www6.uc.cl/manejoheridas/html/aposito.html>

²²¹ HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS., Op. cit., p. 4.

plastificante (glicerina)²²². Sin embargo, los resultados obtenidos para el porcentaje de elasticidad, son similares a los reportados en investigaciones anteriores²²³.

En las siguientes gráficas se muestra el comportamiento del material en función del desplazamiento:

Gráfica 6. Comportamiento del material SP en función del desplazamiento

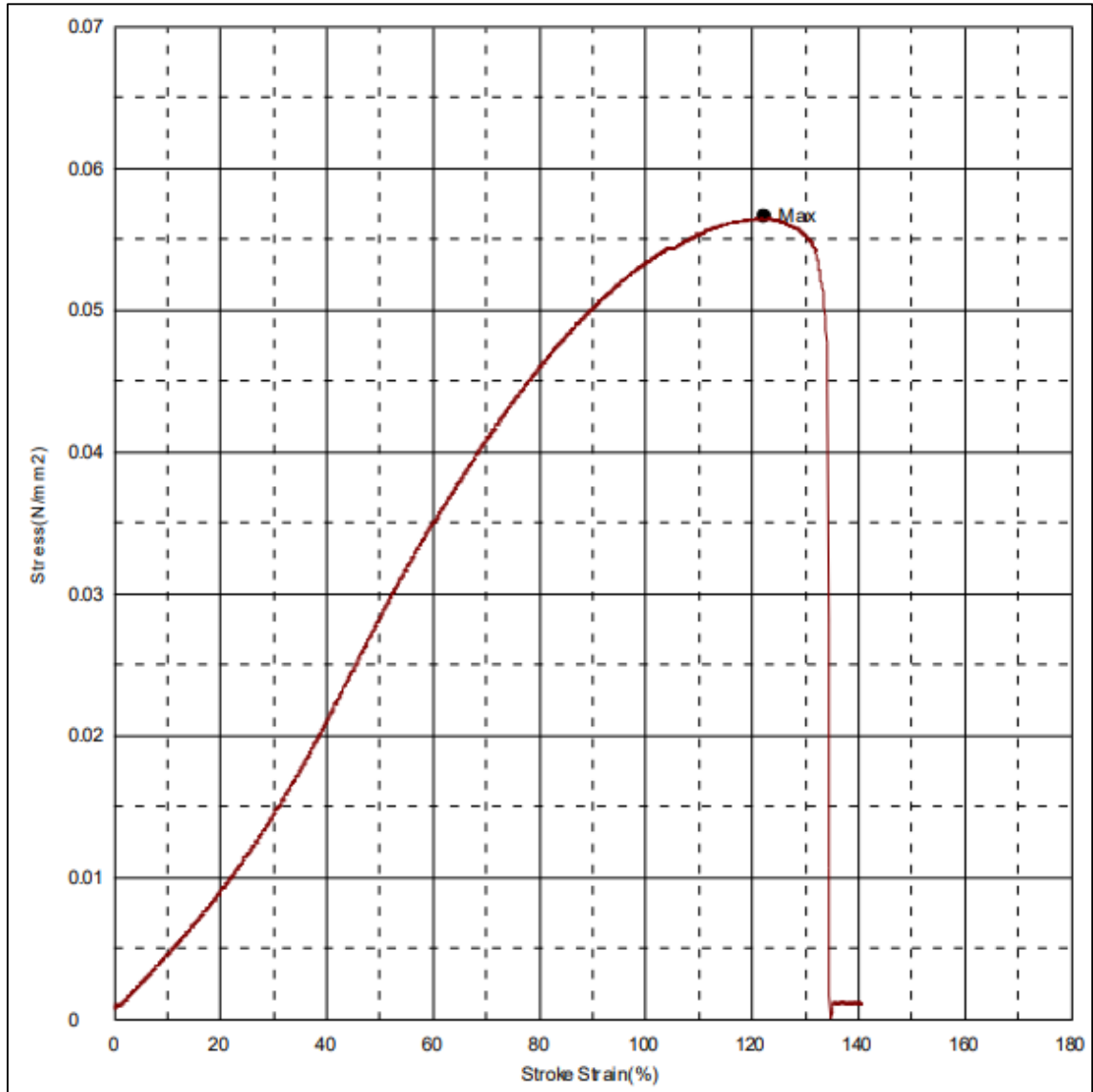


Fuente: UNIVERSIDAD NACIONAL. Laboratorio de ensayos Mecánicos.

²²² GRANADOS. Op. cit., p. 95.

²²³ VOGELSANG. Op. cit., p. 9.

Gráfica 7. Comportamiento del material CP en función del desplazamiento

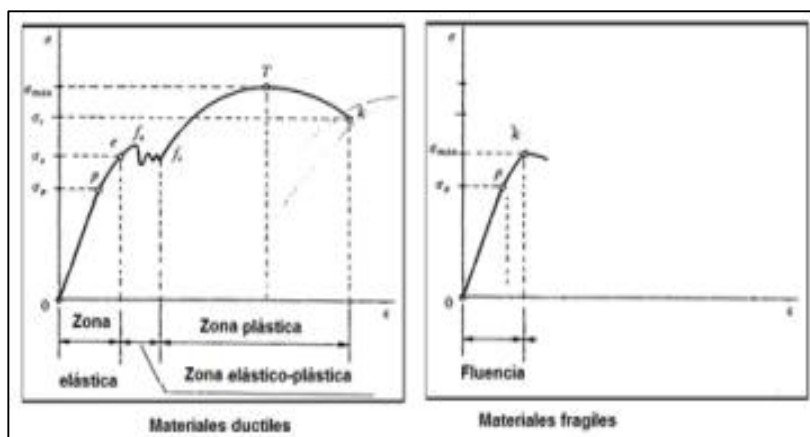


Fuente: UNIVERSIDAD NACIONAL. Laboratorio de ensayos Mecánicos.

Analizando las gráficas presentadas con anterioridad, es posible asegurar que las biopelículas producidas tienen características de un material frágil. Lo anterior, de acuerdo a la clasificación otorgada por la figura que se presenta a continuación extraída del libro Ciencia e ingeniería de los materiales del autor Callister, W.²²⁴

²²⁴ CALLISTER, William. RETHWISCH, David. Ciencia e ingeniería de los materiales. [en línea], 2ª Ed. Utah, Estados Unidos. Editorial Reverte. 2015 [Consultado 10 mayo 2019]. ISBN 978-84-291-7251-5. Disponible en: https://www.reverte.com/libro/ciencia-e-ingenieria-de-los-materiales-2-ed_81440/p.552.

Figura 22. Comportamiento gráfico de los materiales

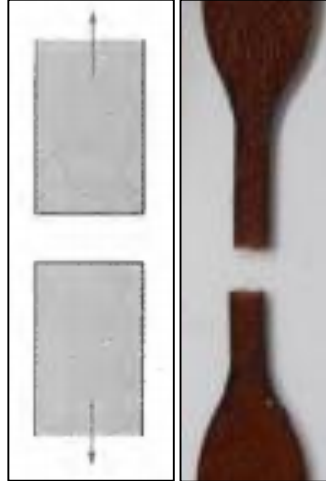


Fuente: CALLISTER, William. RETHWISCH, David. Ciencia e ingeniería de los materiales. [en línea], 2ª Ed. Utah, Estados Unidos. Editorial Reverté. 2015 [Consultado 10 mayo 2019]. ISBN 978-84-291-7251-5. Disponible en: https://www.reverte.com/libro/ciencia-e-ingenieria-de-los-materiales-2-ed_81440/

En los materiales frágiles, existe normalmente poca o ninguna deformación plástica con poca absorción de energía en el proceso de rotura. En relación a lo anterior, en el caso de la fractura frágil, las grietas pueden extenderse de forma muy rápida, con muy poca deformación plástica. Tales grietas se denominan inestables, y la propagación de la grieta, una vez iniciada, continúa espontáneamente sin un aumento en la tensión aplicada. Adicionalmente, este hecho se confirma mediante la naturaleza de la rotura presentada por el material evaluado, como se muestra en la figura a continuación, la fractura frágil ocurre de forma súbita, sin ningún síntoma previo; esto es consecuencia de la propagación rápida y espontánea de la grieta, sin necesidad de aumentos en la fuerza, característico de los materiales frágiles sin comportamiento plástico²²⁵.

²²⁵ *Ibíd.*, p. 32.

Figura 23. Izquierda: Fractura frágil teórica. Derecha: Fractura frágil real



Fuente: CALLISTER, William. RETHWISCH, David. Ciencia e ingeniería de los materiales. [en línea], 2ª Ed. Utah, Estados Unidos. Editorial Reverté. 2015 [Consultado 10 mayo 2019]. ISBN 978-84-291-7251-5. Disponible en: https://www.reverte.com/libro/ciencia-e-ingenieria-de-los-materiales-2-ed_81440/

El punto enunciado como máximo (Max.), dentro de las gráficas, representa el primer punto en el cual ocurre un aumento de la deformación sin que aumente la tensión²²⁶. Posteriormente, se alcanza el punto de resistencia máxima, el cual hace referencia a la máxima tensión unitaria que un material resiste cuando este sujeto a una carga aplicada en tensión, el incremento en la tensión posterior al punto Max. lleva la fractura de la muestra.

En cuanto al módulo de elasticidad se refiere, este puede ser interpretado como la rigidez, o sea, la resistencia de un material a la deformación elástica. Cuanto mayor es el módulo, más rígido es el material, o sea, menor es la deformación elástica que

²²⁶ PETROTUYO. Op. cit. 10.

se origina cuando se aplica una determinada tensión²²⁷. Como se observa en la tabla de los resultados obtenidos tras la aplicación de esta prueba a las biopelículas, el módulo de elasticidad para SP y CP es de 0,03434 y 0,03193 MPa respectivamente. Estos valores resultan inferiores a los obtenidos por los autores Navia, D. y Bejarano, N²²⁸ y sustentan la poca rigidez de los materiales evaluados.

Por otro lado, existen algunos materiales para los cuales la porción elástica inicial del diagrama tensión-deformación no es lineal; por tanto, no es posible determinar un módulo de elasticidad como la pendiente del segmento lineal, resultante al representar la tensión en el eje de ordenadas en función de la deformación en el eje de abscisas²²⁹. Como se observa en las gráficas, no existe un comportamiento lineal en ningún momento del ensayo, razón por la cual la determinación de este parámetro, se realizó empleando el método secante, el cual representa la pendiente de una secante trazada desde el origen hasta algún punto determinado de la curva²³⁰.

²²⁷ CALLISTER. Op. cit., p. 321.

²²⁸ NAVIA. Op. cit., p. 46.

²²⁹ CALLISTER, W. Op. cit., p. 322.

²³⁰ CALLISTER, W. Op. cit., p. 235.

4. CONCLUSIONES

- Se realizó la extracción de pectina a partir de cáscaras de naranja valenciana, utilizando la enzima endo-poligalacturonasa (*Aspergillus niger*), a 40°C, con agitación constante, por un período de 7 horas. Lo anterior, tomando como base de referencia el proceso convencional de hidrólisis ácida. Se obtuvo un rendimiento de 12,41%, el cual resulta comparable con respecto a los obtenidos en investigaciones previas por Pagan, J. (2014). Adicionalmente, se conoció el efecto que las variaciones en estas condiciones, tienen, sobre la pectina extraída.
- Se reconoció que la extracción por vía enzimática es actualmente más costosa que la vía química, principalmente por el costo de la enzima utilizada y los largos períodos de extracción requeridos. Sin embargo, la extracción enzimática es fácilmente controlable y existe un bajo consumo de energía al utilizar una temperatura de trabajo de 40°C, para las enzimas, muy por debajo de la empleada en hidrólisis ácida, de 80°C.
- En conclusión, la aplicación del método enzimático presentó menor rendimiento de extracción, en comparación a la hidrólisis ácida, con una diferencia de 5,32 puntos porcentuales. De acuerdo con los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica, tanto la pectina extraída químicamente, como la extraída enzimáticamente, poseen propiedades similares, dentro de las cuales resulta pertinente destacar: su bajo metoxilo (5,74% - 6,98% respectivamente). Con respecto al alto grado de esterificación de las pectinas (81,48% - 88,34% respectivamente), se confirma la fuerza del gel, por lo que estas pueden ser empleadas en la manufactura de la biopelícula. Además, el análisis espectrofotométrico infrarrojo, corrobora frente a Pagan, J. (2014), que lo extraído, es pectina de acuerdo a la estructura apreciada dentro de los espectros obtenidos. Por tal motivo, esta investigación contribuye a incrementar el valor agregado de los residuos de cáscara de naranja y a la creación de nuevos productos para el mercado.
- A partir de la elaboración de la biopelícula, se determinó que la velocidad de secado, el recipiente de moldeo, las cantidades de almidón, glicerina y pectina son factores de alta relevancia, ya que afectan la elasticidad y estabilidad de la biopelícula. Si el secado es rápido a altas temperaturas, se produce un material quebradizo y frágil. Por el contrario, si esta operación se realiza de forma gradual a temperatura controlada, se obtiene una película elástica y sin cortes. En cuanto a la relación almidón-glicerina, al aumentar las proporciones de esta última en la formulación, se obtuvo un producto más elástico. Con respecto a las pruebas mecánicas, las biopelículas producidas, resultan ser un material débil a la resistencia tensil. Por lo anterior, no resultan adecuadas para aplicaciones que requieran esfuerzos superiores a los 0,04 MPa. Sin embargo, pueden usarse

como apósitos, si no se exponen a temperaturas superiores a los 80°C. La prueba de brillo especular aplicada a las biopelículas, indica que estas, no se degradan por exposición a la luz, asimismo que, son materiales opacos. Finalmente, la prueba de absorción realizada, confirma que la adición de pequeñas cantidades de pectina, mejora en un 37,9% el poder de absorción de la biopelícula, teniendo en cuenta que, la pectina es un polisacárido que absorbe gran cantidad de agua.

5. RECOMENDACIONES

- Para complementar el presente trabajo, se recomienda realizar un estudio del secado de la pectina extraída, a partir de procedimientos no térmicos (secado por prensado, etc.) y la posterior comparación de los rendimientos y propiedades fisicoquímicas.
- De ser posible se recomienda llevar a cabo investigaciones de este tipo con los microorganismos productores de enzimas usadas por investigadores europeos para la extracción enzimática de pectina ya sea con fines analíticos o industriales mencionados en el apartado 1.7 del marco teórico del presente proyecto.
- Si se desea obtener un mejor aspecto en la coloración de la pectina, se recomienda hacer lavados sucesivos disolviendo la pectina en agua acidulada (pH 1,5 a 3), y precipitarla nuevamente.
- Se recomienda realizar un estudio del rendimiento y características físicas y químicas de la pectina extraída enzimáticamente dentro de un reactor enchaquetado, por un período de tiempo superior al estudiado en la presente investigación. Lo anterior, sin variar la relación: cantidad de polvo de naranja / volumen de solución enzimática utilizada. Además, manteniendo constantes, las condiciones que en este trabajo se han establecido para posterior comparación de rendimientos.
- Para el caso del análisis del peso equivalente, acidez libre, contenido de metoxilo, grado de esterificación, contenido de ácido galacturónico y alcalinidad de cenizas, se recomienda especial cuidado en la titulación, con referencia a la cantidad de NaOH requerida para estabilizar las soluciones, debido a que desviaciones en esta variable podrían afectar de manera significativa los resultados de estos parámetros.
- De ser posible, se recomienda realizar una modificación química al almidón, para evitar la retrogradación y mejorar las propiedades mecánicas de las biopelículas, teniendo en cuenta que, con esto se permite una mayor movilidad de las cadenas poliméricas y, por tanto, una mayor flexibilidad.
- Teniendo en cuenta las características formadoras de película que posee la pectina, se sugiere de ser posible, la sustitución total o parcial del almidón de yuca, por esta, dentro de las formulaciones. Lo anterior, con el fin de evaluar su factibilidad y comparar sus propiedades mecánicas y de absorción, con los resultados alcanzados durante la presente investigación.

- Esta investigación se limitó hasta la elaboración de una lámina de biopelícula, se recomienda seguir con el proceso hasta la obtención del prototipo del apósito requerido.
- Involucrar una investigación de tipo económica para conocer la viabilidad de este tipo de material.
- Se requiere un trabajo más profundo en el secado de las biopelículas realizando un modelo de transferencia de masa y energía y evaluándolo con datos experimentales.

BIBLIOGRAFIA

ACEVEDO, Vanesa., RAMIREZ, Diana. Análisis técnico y económico de la pectina, partir de la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis*) [en línea]. Trabajo de grado para optar el título de Ingeniera Agroindustrial. Universidad de San Buenaventura Cali, 2011 [Consultado 19 mayo 2019]. Disponible en: http://bibliotecadigital.usb.edu.co:8080/bitstream/10819/1336/1/An%C3%A1lisis_Econ%C3%B3mico_Naranja_Acevedo_2011.pdf. p.12-13.

ACOSTA, Gema. Comportamiento de la pectina de la pulpa de guayaba conservada con bisulfito de sodio. Trabajo de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias, 1984, [Consultado 12 febrero 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books/about/Comportamiento_de_la_pectina_de_pulpa_de.html?id=1_LpjpgEACAAJ&redir_esc=y. p 25.

ADETUNJI, Ridwan., ADEKUNLE, A., ORSAT, Vérie., RAGHAVAN, V. Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. [en línea]. 2017. [Consultado 12 febrero 2019]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.015. p. 239-250.

ALARCÓN, Hugo., ARROYO, Edmundo. Evaluación de las propiedades químicas y mecánicas de biopolímeros a partir del almidón modificado de la papa. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2016. [Consultado 15 febrero 2019]. p. 315-323.

ÁLVAREZ, Cristina., FERNÁNDEZ, Alejandro. Efecto del Proceso de Cocción Sobre la Firmeza de Plátanos Hartón y Guayabo [en línea]. 2014. 2 [consultado 13 mayo 2019]. p.112-128.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM 882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin plastic sheeting. Pennsylvania (United States): 2010, 10 p. [consulta: 25 mayo 2019].

_____. ASTM D2457: Specular Gloss of Plastic Films and Solid Plastics. Pennsylvania (USA): 2008, 6 p. [consulta: 25 mayo 2019].

_____. ASTM D638: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. Pennsylvania (United States): 2010, 16 p. [consulta: 25 mayo 2019].

_____. ASTM E96: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Pennsylvania (USA): 2005, 12 p. [consulta: 25 mayo 2019].

ANDERSON, R., CONWAY, H., PTEIFER, V., GRIFFIN L. Gelatinization o corn grits by roll and extrusion cooking. Cereal Sci Today, 1969. 14a Ed. [Consultado 22 febrero 2019]. p.1-12.

ARAUJO, M., CUNHA, S., MOTA, M.; *Biomaterials*, 13a. 2004. p 2687 – 2693

ARÉVALO, Fermín., QUISPE, Armando. Control y regulación del pH en una fermentación láctica utilizando carbonato de calcio como regulador y microbiota de granos de kefir como agente biológico. [en línea]. 2008. 9(1). DOI: 10.21503/cyd.v9i0.1175.p. 5-10.

AVÉROUS, L., FRINGANT, C., MORO, L., Plasticized starch–cellulose interactions in polysaccharide composites [en línea]. 2001. 42(19) [consultado 15 mayo 2019]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00125-2](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00125-2). p. 6565-6572.

AYALA, Jorge., BARBOSA, Cristian. Determinación de la resistencia a la tracción y tenacidad de un material compuesto a partir de bagazo de caña de azúcar y almidón de yuca, a través de los ensayos de tensión y de impacto charpy. [en línea]. Tesis pregrado ingeniería Mecánica. Universidad Santo Tomas, 2014, [Consultado 26 marzo 2019]. Disponible en: <https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/2669/ayalajorge2014.pdf?sequence=1>

BADUI, Salvador. Química de los Alimentos. [en línea]. 4ª Ed. México, Pearson Addison Wesley, ISBN 970-26-0670-5. 2006. [citado el 12 de febrero de 2019]. p. 716. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf

BAILEY, J.K., SAMMET, S., OVEROCKER, J., CRAFT-COFFMAN, B., ACEVEDO, CM., COWAN, ME., & POWELL, HM. MRI compatibility of silver based wound dressings [en línea]. 2018. 44(8). [Consultado 13 septiembre 2018]. DOI:10.1016/j.burns.2018.05.017.p. 1940-1946.

BAYAR, N., FRIJI, M., KAMMOUN, R.. Optimization of enzymatic extraction of pectin from opuntia ficus indica cladodes after mucilage removal. [en línea]. 2018. (241). DOI: doi.10.1016/j.foodchem.2017.08.051. p. 127-134.

BD, Becton Dickinson SA. Tryptic soy agar. En: Becton Dickinson SA [sitio web]. Heidelberg: Becton Dickinson SA [consulta: 28 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/BA/ES-BA-256665.pdf>

BETANCOURTH, Marisol., BOTERO, Javier., RIVERA, Sandra. Biopelículas: Una comunidad microscópica en desarrollo. [en línea]. 2004. 32(3). [consultado 13 abril 2019]. Disponible en: <http://bioline.utsc.utoronto.ca/archive/00002329/> .p. 34-39.

BETELGEUX. Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia. En: Betelgeux [sitio web]. Valencia: Betelgeux [consulta: 05 Julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en:

https://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_Desinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf.

BROOKFIELD AMETEK. BROOKFIELD DV-I PRIME, Digital Viscometer Operating Instructions. En: Brookfield Ametek [sitio web]. Raynham. Brookfield [consulta: 15 julio 2019] Archivo PDF. Disponible en: <https://www.brookfieldengineering.com/-/media/ametekbrookfield/manuals/obsolete%20manuals/dv-i%20prime%20m07-022-d0613.pdf?la=en> p.20.

BUENSUCESO, V. Elaboración y caracterización de biopelículas a partir de almidón de yuca. [en línea]. Tesis pregrado. Ingeniería Química Industrial. Instituto Politécnico Nacional, 2010, [Consultado 10 mayo 2019]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/25079>

CALLISTER, William. RETHWISCH, David. Ciencia e ingeniería de los materiales. [en línea], 2ª Ed. Utah, Estados Unidos. Editorial Reverté. 2015 [Consultado 10 mayo 2019]. ISBN 978-84-291-7251-5. Disponible en: https://www.reverte.com/libro/ciencia-e-ingenieria-de-los-materiales-2-ed_81440/

CALVO, Miguel. En: Milk science [sitio web]. Zaragoza: Milk science. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/historia.pdf>. Archivo PDF. p. 20-34.

CARRILLO, Emma. Diseño de un proceso piloto de extracción de pectina como gelificante a partir de residuos de la naranja [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Internacional SEK, 2017 [consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>

CAYÓN, Gerardo., VALENCIA, Jorge., MORALES Humberto., DOMÍNGUEZ, Argemiro. Desarrollo y producción del plátano Dominic Hartón (Musa AAB Simmonds) en diferentes densidades y arreglos de siembra. [en línea], 2004 Agronomía Colombiana, 22, (1). [Consultado 21 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180317823003>.

CERÓN Ivonne, CARDONA Carlos. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cascara de naranja. [en línea] 2011. Rev. Scielo, Ingeniería y Ciencia, 7 (13) [Consultado 15 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ince/v7n13/v7n13a04.pdf>. p. 65–86.

CHASQUIBOL, Nancy., ARROYO, Edmundo., MORALES, Juan. Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. [en línea]. 2008. (26) [consultado 24 de septiembre 2018], p.175-199.

CONCEPTODEFINICION.DE [sitio web]. CONCEPTODEFINICION.DE. definición de viscosidad. [Consulta: 19 mayo 2019] Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/viscosidad/>

CONSUMER [sitio web]. CONSUMER, La pectina de manzana. [consulta: 18 marzo 2019]. Disponible en: http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2004/07/22/106239.php

CONTRERAS, J., BANDA, L., MONTAÑÉZ, J. Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. En: Research gate [sitio web]. Coahuila (Saltillo, Coahuila, & México). [consulta: 08 septiembre 2018]. Archivo PDF. Disponible en: https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_I/CARTEL/CI-9.pdf

CORRALES, Catalina., MENESES, Juliana., VALENCIA, Marco. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. [en línea]. 2007. (8). [consultado 08 de febrero 2019], Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372007000200006

CORTES, José., FERNÁNDEZ, Amanda., MOSQUERIA, Silvio., VELASCO, Reinaldo. Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial [en línea]. 2014. 12 (1). [consultado 10 de febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612014000100011&script=sci_abstract&tlng=es. p. 88-97.

CURVELO, A., CARVALHO, A., AGNELLI, J. Thermoplastic starch–cellulosic fibers composites: preliminary results. [en línea]. 2001. 45 (2). Carbohydrate Polymers. [consultado 13 de marzo 2019]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00314-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00314-3). p. 183-188.

DANE. El cultivo de la naranja valenciana (*Citrus sinensis* [L.] Obsbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. En: DANE. [sitio web]. Bogotá: DANE. [consulta: 22 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2016.pdf

DEFINICION.DE [sitio web]. DEFINICION.DE, definición de absorción. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/absorcion/>

_____. DEFINICION.DE, definición de alcalinidad. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/alcalinidad/>.

_____. DEFINICION.DE, definición de almidón. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/almidon>.

_____. DEFINICION.DE, definición de enzima. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://definicion.de/enzima/>.

DEVIA, Jorge. Proceso para producir pectinas cítricas. [en línea]. 2003. 39(129). Rev U. EAFIT. [consultado 15 de marzo 2019]. p. 21-29. Disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/918/823> p. 21-29.

DÍAZ, José., MASS, Eduardo. Fabricación de productos de vidrio. [en línea]. Tesis de posgrado. Doctorado en química. Universidad de Buenos Aires. 1952. [consultado 21 de marzo 2019]. Disponible en: https://digital.bl.fcen.uba.ar/download/tesis/tesis_n0706_Pesserl.pdf

DIGESTES, [sitio web]. GREEN FACTS. Definición de plastificante. [consultado 28 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.greenfacts.org/es/glosario/pqrs/plastificante.html>

DOT, Weir. Wound management and dressings. En: Surgical Dressings and Wound Management [en línea]. 3a ed. Medetec, South Wales: British Library, 2019 [citado el 12 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.amazon.com/Surgical-Dressings-Wound-Management-Thomas/dp/1844268349>.

DURAN, Diana. Análisis fisicoquímico de productos farmacéuticos en las diferentes etapas del proceso de la industria farmacéutica. En: Universidad de Carabobo [consulta: 28 febrero 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://portal.facyt.uc.edu.ve/pasantias/informes/P75515319>

ECURED [sitio web]. ECURED, Centrifugadora [consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Centr%C3%ADfuga>

EHU [sitio web]. EHU, Caracterización de materiales cristalinos [Consulta: 09 julio 2019] Disponible en: <http://www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.html>

FENNEMA, O., Química de los alimentos. En: Introducción a la química de los alimentos. [en línea]. 3ª Ed. Zaragoza, España: Acribia, 2003, [citado 03 febrero 2019]. Disponible en: <https://sceqa.files.wordpress.com/2014/05/quc3admica-de-los-alimentos-fennema.pdf>

FERREIRA, Salomón., Pectinas: Aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial. 2007. Universidad Nacional de Colombia - Proceditor Ltda. [consultado 12 octubre 2018]. p 186.

FERREIRA, Salomón. Aislamiento y Caracterización de las pectinas de algunas variedades de frutos cítricos colombianos. 1976. Rev. Colomb. Cien. Quim. Farm. 3(1). [consultado 12 octubre 2018]. P. 5-25.

FLORES, Susana., HERNÁNDEZ, Omar. Propiedades termodinámicas de diversas sustancias a 298,15 K. En: depa.fquim.unam.mx [sitio web]. Ciudad de México. depa.fquim.unam.mx [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tablasdepropiedadestermodinamicas_12182.pdf

FOOD-INFO [sitio web]. FOOD-INFO, definición de pectina. [Consulta: 19 mayo 2019] Disponible en: <http://www.food-info.net/es/qa/qa-wi6.htm>.

FRANCISCO SORIA MELGUIZO S.A. Potato dextrose agar tubo. En: f-soria [sitio web]. Madrid: f-soria. [consulta: 12 de mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en : http://f-soria.es/Inform_soria/Difco%20Fichas%20tecnicas/TUBOS%20DIFCO/FT%20POTATO%20DEXTROSE%20AGAR.pdf.

GARCÍA, Alma. Obtención de un polímero biodegradable a partir de almidón de maíz. [en línea]. San Salvador, El Salvador: ITCA Editores, 2015. Disponible en: <http://www.redicces.org.sv/jspui/bitstream/10972/2436/4/05%20Obtenci%C3%B3n%20de%20un%20pol%C3%ADmero%20biodegradable-convertido.pdf>

GIL, Marielsa. LIFEDER. [sitio web]. Agar MacConkey: fundamento, preparación y usos. [consultado en 23 noviembre 2018], Disponible en: <https://www.lifeder.com/agar-macconkey/>

GIMENO, Alberto. ENGORMIX. [sitio web]. Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas. 2015, [consultado en 14 de febrero 2019], Disponible en: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>

GONTARD, Nathalie, GUILBERT, Stéphane. Bio-packaging technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin [en línea]. 1996. 15(1). [consultado 19 mayo 2019]. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR19970042167>. p. 3-15.

GOOGLE SITES [sitio web]. GOOGLE SITES, definición de gelificación. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/cocina4ingenieros/ciencia-y-tecnologia/tecnicas/gelificacin>

GONZÁLEZ, J [sitio web]. Curso de biomoléculas, Universidad del país Vasco [consulta: 15 abril 2019]. Disponible en: <http://www.ehu.eus/biomoleculas/>

GRANADOS, C., GUZMÁN, L., ACEVEDO, D., DÍAZ, M., HERRERA, A. Propiedades funcionales del almidón de MAGU. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria*, [en línea]. 2014, 12 (2). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a10.pdf>. p.90-96.

GREEN FACTS [sitio web]. GREEN FACTS, definición de plastificante. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.greenfacts.org/es/glosario/pqrs/plastificante.html>

GRUBER HERMANOS. Molinos de martillos. En: Gruber Hermanos [sitio web]. Baracaldo. Gruber Hermanos [consulta: 09 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.gruberhermanos.com/images/Catalogos/7-Molinos-de-martillosg.pdf>

GTM Chemicals. Carbonato de calcio Ficha de datos de seguridad. En: GTM Chemicals [sitio web]. Bogotá. GTM Chemicals [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://www.gtm.net/images/industrial/c/CARBONATO%20DE%20CALCIO.pdf>.

HENAO, Cesar., GUERRA, Adrián., CABARCAS, Esteban. Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un diseño general del proceso de producción. Tesis de ingeniería química. Cartagena de Indias. Universidad de Cartagena, 2012, [citado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/109/1/Trabajo%20de%20grado-Extraccion%20y%20caracterizacion%20de%20pectina%20a%20partir%20de%20cascaras%20de%20platanos%20para%20desarrollar%20un%20dise%C3%B1o%20general~1.pdf>.

HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS. AQUACEL® Apósito de Hydrofiber. En: Hospital Universitario de Asturias [sitio web]. Oviedo [consulta: 16 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: http://www.hca.es/huca/web/enfermeria/html/f_archivos/FICHAS/AQUACEL.pdf. p. 2.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACION. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC -1486- 6166. Bogotá D.C. El instituto, 2018, ISBN 9789588585673. p. 153

IQCitrus [sitio web]. IQCitrus, Cáscara deshidratada de naranja [Consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <http://iqcitrus.com/28-productos/cascara/24-cascara-deshidratada-de-naranja>

JÍMENEZ, Alberto., FABRA, Maria., TALENS, Pau., CHIRALT, Amparo. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn

starch films containing fatty acids [en línea]. 2012. 26(1). [consultado 06 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11001834> p. 302-310.

KAMNEV, A., COLINA, M., RODRIGUEZ, J., PTITCHKINA, N., IGNATOV, V. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. *Food Hydrocolloids*, 1998: 12 (3), p. 263-271.

KOUBALA, Benoit., CHRISTIAENS, Stefanie., KANSCI, Germain., VAN LOEY, Ann., HENDRICKX, Marc. Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin [en línea]. 2014. 55. DOI:10.1016/j.foodres.2013.11.009. p. 215-221.

LA GUÍA QUÍMICA [sitio web]. LA GUÍA QUÍMICA, definición de esterificación. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/esterificacion>.

_____. LA GUÍA QUÍMICA, definición de rendimiento. [Consulta: 19 mayo 2019]. Disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/rendimiento>.

LAOHAKUNJIT, Natta., NOOMHORM, Athapol. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Stärke*, [en línea]. 2004, 56 (8). [consultado en 22 marzo 2019]. DOI: doi.org/10.1002/star.200300249. p.348–356.

LIU, L., CAO. J., CAI. Y., YAO., J. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology*, [en línea]. 2010. 101(9). [consultado en 22 marzo 2019]. p. 3268-3273.

LUNA, G., VILLADA, H., VELASCO, R. Almidón termoplástico de yuca reforzado con fibra de fique: preliminares. [en línea]. 2009, 76(159). [consultado en 29 mayo 2019] p. 145-151.

LUO, Xuegang., LI, Jiwei., LIN Xiaoyan. Efeccto de la gelatinización y los aditivos en la morfología y el comportamiento térmico de las películas de mezcla de almidón de maíz/PVA [en línea]. 2012. 90(4) [consultado: 16 julio 2019]. p. 1595-1600.

MALI, S., SAKANAKA, L., YAMASHITA, F. GROSSMANN, V. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*, [en línea], 2005. 60(3). [consultado en 29 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861705000214>. p. 283–289.

MAMLOUK, M., ZANIEWSKI, P. *Materiales para ingeniería civil* [en línea]. 2ª Ed. Madrid, España: Pearson Educación, 2009 [citado el 25 de enero de 2019].

Disponible en: [https://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4870304](https://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4870304)

MANRIQUE Guillermo., LAJOLO, Franco. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, [en línea]. 2002, 25(1). [consultado en 11 de noviembre 2018]. p. 99-107.

MÁS, Aniket., SEN, Chandani., DAS, Madhusweta. Development of starch-polyvinyl alcohol (PVA) biodegradable film: Effect of cross-linking agent and antimicrobials on film characteristics [en línea]. 2017. 9(3). [consultado 30 enero 2019]. Disponible en: <http://scholarworks.rit.edu/japr/vol9/iss3/1>

MEGAZYME. [sitio web]. Endo-POLYGALACTURONANASE from *A. niger* (lot 180804). [consultado 26 marzo 2019], Disponible en: <https://secure.megazyme.com/endo-Polygalacturonanase-M2-Aspergillus-acuteatus>. p. 2.

MENDOZA, Lina., JIMÉNEZ, Javier., RAMÍREZ, Miguel. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*theobroma cacao* L.) [en línea]. 2017 20(1). [consultado 15 de noviembre 2018]. DOI:10.31910/rudca.v20.n1.2017.70. p. 131-138.

MENESES, Juliana., CORRALES, Catalina., VALENCIA, Marcos. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. [en línea]. 2007. (8). [consultado 13 de octubre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372007000200006. p. 57-67.

MEÑACA, Carlos., FARID, Richard., MARINO, Javier. Evaluación de la calidad de las pectinas cítricas obtenidas a partir de las cáscaras de naranja de las variedades valencia y común, en estado de maduración grado cinco [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y A Distancia, 2010 [consultado: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/20489/1/Tesis%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20DE%20LAS%20PECTINAS.pdf>.

METTLER TOLEDO. UV/VIS Spectrophotometry Fundamentals and Applications. En: Mettler Toledo [sitio web]. Schwezenbach. Market Support Group AnaChem / RK [Consulta: 09 Julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: https://www.mt.com/dam/non-indexed/po/ana/uvvis/UVVIS_SpectrophotometryGuide_09-15.pdf

MINA, José., VALADEZ, Alex., HERRERA, Pedro., TOLEDANO, Tanit. Influencia del tiempo de almacenamiento en las propiedades estructurales de un almidón

termoplástico de yuca (TPS) [en línea]. 2011. 11(2) [consultad 22 de noviembre 2018]. Disponible en: http://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/articloe/download/2461/3211/p.95-106.

MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN. Código de Buenas Prácticas científicas y comité de Integridad de la Investigación. En: Instituto de salud Carlos III [sitio web]. Madrid: Instituto de salud Carlos III. [consulta en: 05 de Julio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-organizacion/fd-comites/CodigoPracticasCientificas.pdf>. p.1.

MUÑOZ, Francisco. Extracción y caracterización de la pectina obtenida a partir del fruto de dos ecotipos de cocona (*solanum sessiliflorum*), en diferentes grados de madurez; a nivel de planta piloto [en línea]. Maestría en Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional de Colombia, 2011 [Consultado 10 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/4006/1/822093.2011.pdf>

MYCOMASTERS. [sitio web]. My Comasters, Cultivo de Hongos. [consulta: 28 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.mycomasters.com/Esp/Tiempo.html>

MEDLINE PLUS [sitio web]. Medline Plus, Infecciones por estafilococo. [consulta: 30 de mayo 2019]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/staphylococcalinfections.html>

NABERTHERM. Operating Instructions Controller B130/B150/B180/C280/P300/P310/P330. En: Nabertherm [sitio web]. Lilienthal. Nabertherm GmbH. [consulta 09 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.coleparmer.com/i/nabertherm-1t-15-12-p330-muffle-furnace-910-cu-in-100-1200-c-208-240-vac/3333417>.

NAVIA, D., BEJARANO, N. Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca. Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial, [en línea]. 2014, 12(2). [consultado 10 de mayo 2018], Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000200005&lng=en&tlng=en. p.40-48.

NAVIA, Diana., VILLADA Héctor., AYALA Alfredo. Evaluación mecánica de bioplásticos semirrígidos elaborados con harina de yuca [en línea]. 2013. Ed especial No. 2 [consultado: 16 julio 2019]. p. 77-84.

NOVOZYMES. Pectinex Ultra SP-L. En: NOVOZYMES [sitio web]. Bagsværd: Novozymes. [consulta: 12 abril 2019]. Archivo PDF. Disponible en: www.novozymes.com

NORMA TECNICA COLOMBIANA NTC 1772 [en línea]. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Plásticos. determinación de la absorción de agua ntc: 1772. NTC 1772. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC 1999, [consulta: 25 noviembre 2018].

_____ NTC 1486 [en línea]. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación ntc: 1486. NTC 1486. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC 2016, [consulta: 02 diciembre 2018].

_____ NTC 6166 [en línea]. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias bibliográficas. Contenido, forma y estructura ntc: 6166. NTC 6166. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC 2008, [consulta: 25 noviembre 2018].

OWENS, HS., MIERS, JC., MACLAY, WD. Distribution of molecular weights of pectin propionates [en línea]. 1948 3(4) [Consultado 13 septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18876994> p. 277-291.

PAGAN, Jordi. Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón [en línea]. Tesis de pregrado. Universitat de Lleida. 2014 [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=od_____296::41961ca3b729002eae66c1934ffef29b.

PAREDES, Jorge., HERNÁNDEZ, Roxana., CAÑIZARES, Adolfo. Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cascós de guayaba (*Psidium guajava* L.) [en línea] 2015, 33(3) [consultado: 05 Julio 2019]. p. 35-41.

PÉREZ, P., GALÁN, Fatima., GUTIÉRREZ, D., GUERRERO, I. Infecciones por enterobacterias [en línea]. 2014 11(55), [consultado 13 mayo 2019]. DOI: 10.1016/s0304-5412(14)70768-1. p. 3276 – 3282.

PEREZ, S; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. Starch-Starke., 2010. 62 (8). p 389-420.

PETROTUYO. [sitio web]. PETROTUYO, Propiedades Mecánicas: [consulta: 12 mayo 2019]. Disponible en: <http://www.petrocuyo.com/es/tecnologia/el-polipropileno/propiedades-mecanicas>

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE [sitio web]. Procedimientos de curación, apósitos o cobertura [consultado: 16 julio 2019]. Disponible en: <http://www6.uc.cl/manejoheridas/html/aposito.html>

PURI, Monica., KUMAY, Vinay. The role of biopolymers and biodegradable polymeric dressings in managing chronic wounds [en línea]. 2da ed. Woodhead: Publishing, 2019. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081021927000163>

RAJENDRAN, S. Advanced textiles for wound care [en línea]. 2ªed. :Woodhead Publishing Ltd, 2019 [citado el 29 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2017-0-00217-3.p.666>.

RANDZIO, SL., ORLOWKA, M. Simultaneous and in situ analysis of thermal and volumetric properties of starch gelatinization over wide pressure and temperature ranges [en línea]. 2005. 6(6) [consultado 07 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16283725>. p. 3045-3050.

RAO, Anandha. Flujo y modelos funcionales para las propiedades reológicas de alimentos fluidos. En: Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods. [en línea]. 3a Ed. Boston, USA: Springer US, 2014. [citado el 12 de febrero 2019]. Disponible en: <http://doi.org/10.1007/978-1-4614-9230-6>. p. 27-61.

ROJAS, Jennifer., PEREA, Aidé., STASHENKO, Elena. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos [en línea]. 2009. 19(1) [consultado 18 agosto 2018]. p.110-115.

RUTIAGA, Olga. Elaboración de películas plásticas flexibles a partir de polímeros naturales como una alternativa de empaque y la evaluación de sus propiedades [en línea]. Tesis de doctorado en ciencias con especialidad en biotecnología. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2002. [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=dedup_wf_001::7eda53a63a14bbdc269a17df127f0cb4

SANTAMBROSIO, Eduardo. CATEDRA DE BIOTECNOLOGIA. En: Universidad Tecnológica Nacional [sitio web]. Rosario. [Consulta: 12 de mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practico4.pdf

SERRAT, Manuel., DUMÉ, Richard., DEL TODO, Yuniesky., RODRIGUEZ, Odalys., ALMENARES, Juan., Machado, Roberto. Hidólisis enzimática del ácido péctico con una endopoligalacturonasa de levadura: Cinética y distribución de masas moleculares [en línea] 2013. 25(1) [consultado: 13 septiembre 2018]. p. 48-54.

SHAHZAD, K., HARDING, J. Advanced textiles for wound care [en línea]. 2da ed. USA: Woodhead Publishing, 2019. [citado el 12 de febrero de 2019]. Disponible en:

<https://www.elsevier.com/books/advanced-textiles-for-wound-care/rajendran/978-0-08-102192-7>

STEPHEN, Alistair, PHILLIPS, Glyn, WILLIAMS, Peater. Food Polysaccharides and their applications [en línea]. 2da ed. Londres: Taylor & Francis, 2006. [citado el 10 septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.crcpress.com/Food-Polysaccharides-and-Their-Applications/Stephen-Phillips/p/book/9780824759223>. p. 733.

THIRE, R., SIMAO, R., ANDRADE, C. Investigation of the Surface Morphology of Plasticized Corn starch Films, Act Microscopic 12 (1), (2003), p.175-179.

THOMAS, Steve., UZUN, Muhammet. Testing dressings and wound management Materials [en línea]. 2da ed. Woodhead: Publishing, 2019, [citado el 12 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081021927000023>

TPLABORATORIOQUIMICO [sitio web]. TPLABORATORIOQUIMICO, Centrífuga de Laboratorio [consulta: 15 julio 2019]. Disponible en: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/centrifuga-de-laboratorio.html>

TRUJILLO, Cinthya. Obtención de películas biodegradables a partir de almidón de yuca (Manihot esculenta Crantz) doblemente modificado para uso en empaque de alimentos [en línea]. Tesis de ingeniería agroindustrial. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, 2014. [consultado 10 septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/UNAMAD/65/004-2-1-013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

URANGO, Katty., ORTEGA, Fabián., VÉLEZ, Gabriel., PÉREZ, Omar. Extracción rápida de pectina a partir de cáscara de maracuyá (passiflora edulis flavicarpa) empleando microondas [en línea]. 2018. 29(1). [consultado 22 febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642018000100129&lng=en&tlng=eyn p.129-136.

VALERO, Manuel., ORTEGÓN, Yamileth., USCATEGUI, Yomaira. Biopolímeros: Avances y perspectivas [en línea].2013. 80(181) [consultado 22 marzo 2019], Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532013000500019&lng=en&tlng=en p.171-180.

VAN. Jeroen., Vliegenthart, Johannes. Crystallinity in starch plastics consequences for material properties [en línea]. 1997. 15(6). [consultado 13 septiembre 2018]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779997010214>. p. 208-213.

VILLALOBOS, Ricardo., CHANONA, Jorge., HERNÁNDEZ, Pilar., GUTIÉRREZ, Gustavo. CHIRALT, Amparo. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure [en línea]. 2005. 19(1) [consultado 07 septiembre 2018]. p. 53-61.

VERA, A., BERNAL, C., VAZQUEZ A., Comportamiento mecánico de compuestos de celulosa modificada / almidón reforzada con fibras sisal cortas. En: Simposio de materiales (Mar del plata, Argentina). Memorias. Argentina: 2003, p.926-929.

VOGELSANG, David. Análisis del flujo de un biopolímero soluble. [en línea]. Tesis para Magister en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, 2013 [consultado 9 septiembre 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/11096/1/02822326.2013.pdf>. p. 9.

VRIESMANN, Lúcia, TEÓFILO, Reinaldo, DE OLIVEIRA, Carmen. Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. LWT [en línea]. 2012 .49(1). [consultado 13 septiembre 2018]. p. 108 - 116

WINKLER. Ficha de seguridad química Acido Clorhídrico 37%. En: LCO [sitio web]. La serena. LCO. [consulta: 15 julio 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <http://www.lco.cl/operations/safety-and-health/technical-info/safety-data-sheets/Ficha%20seguridad%20Acido%20Cloridrico.pdf>

ZHANG, JF., SUN X., Mechanical properties of poly(lactic acid)/starch composites compatibilized by maleic anhydride [en línea]. 2004, 5 (4). [consultado: 13 septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15244463>. p 1446-1451

ANEXOS

ANEXO A.

FICHA TECNICA DE LA ENZIMA ENDO-POLIGALACTURONASA EMPLEADA.

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES	
Declared enzyme	Polygalacturonase
Declared activity	3300 PGU/g
Color	Brown
Physical form	Liquid
Approximate density (g/ml)	1.17
Odor	Slight fermentation odor
Solubility	Active component is readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Standardisation components can cause turbidity in solution.
Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.	

PRODUCT SPECIFICATION			
	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Pectinase unit*PGU	3300		/g
Total viable count	-	50000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max. 30	mg/kg
Lead		Max. 5	mg/kg
Arsenic		Max. 3	mg/kg
Cadmium		Max. 0.5	mg/kg
Mercury		Max. 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION	
Ingredients	Appr. % (w/w)
Glycerol, CAS no. 56-81-5	45
Water, CAS no. 7732-18-5	45
Polygalacturonase, CAS no. 9032-75-1*	5
Potassium chloride, CAS no. 7447-40-7	5

*Defined as enzyme conc. (dry matter basis)
No preservatives added

ALLERGEN			
Allergen	Substance contained?	Allergen	Substance contained?
Beef	no	Lactose	no
Carrot	no	Legumes	no
Celery	no	Lupin	no
Cereals containing gluten*	no	Milk	no
Chicken meat	no	Molluscs	no
Cocoa	no	Mustard	no
Coriander	no	Nuts*	no
Corn/maize	no	Peanuts	no
Crustaceans	no	Pork	no
Egg	no	Sesame	no
Fish	no	Soy	no
Glutamate	no	Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

*Definition of substances according to LeDa/ALBA and EU Regulation 1169/2011, as amended
*i.e. wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut
*i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistachio nut, macadamia nut and Queensland nut

NUTRITIONAL VALUES	
The product has a typical nutritional value of approximately 535 kJ/100 g enzyme product.	
• Protein	5 g/100 g
• Polysols	45 g/100 g
• Ash	5 g/100 g
• Moisture	45 g/100 g

GM STATUS	
This product is not a GMO.	
Production organism	Aspergillus sclerotium
The enzyme product is manufactured by fermentation of a microorganism that is not present in the final product. The production organism is not modified using modern biotechnology.	

Pectinex[®] Ultra SP-L

STORAGE CONDITION

Recommended storage: 0-10 °C (32-50 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance when stored as recommended and used prior to the best-before date.

The product can be transported at ambient temperature. Following delivery, the product should be stored as recommended.

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC), and with relevant Chinese food safety and product standards for food-grade enzymes.

Kosher and Halal certificates are available from the Customer Center or sales representative.

If used as processing aid in the production of food the final product may be classified as "organic" by relevant authorized associations.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.



Fuente: NOVOZYMES. Pectinex Ultra SP-L. En: NOVOZYMES [sitio web]. Bagsværd: Novozymes. [consulta: 12 abril 2019]. Archivo PDF. Disponible en: www.novozymes.com