

OBTENCIÓN DE PECTINA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.VAR. MEDIA CHINA) MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA ASISTIDA CON ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD.

T. Meza-Gaspar^a, H. A. Váquiro-Herrera^b, R. I. Castillo-Zamudio^c, I. Paniagua-Martínez^d, C. Ozuna^e, E. Corona-Jiménez^a

^a Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur S/N, Col. San Manuel, C. P. 72570, Puebla, Puebla, México. ^b Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad del Tolima. Barrio Santa Helena, A.A. 546, Ibagué, Tolima, Colombia. ^c Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz. Km. 88.5 Carretera Federal Xalapa-Veracruz. Manlio Fabio Altamirano, C. P. 91690, Veracruz, México. ^d Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios, Departamento Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, C. P. 46022, Valencia, España. ^e Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Carretera Irapuato-Silao km. 9, C. P. 36500 Irapuato, Guanajuato, México.
*edith.coronaji@correo.buap.mx

RESUMEN:

Se evaluó la extracción ácida (ácido cítrico; pH=3) asistida con ultrasonidos de pectina de muestras de guayaba. Una extracción con Hidrólisis Ácida (HA) y una con Hidrólisis Ácida Asistida con Ultrasonidos (HAUS) fueron llevadas a cabo a tres diferentes tiempos (10, 30 y 40 minutos) a temperatura constante ($75\pm 0.1^{\circ}\text{C}$). Para los ultrasonidos, un máximo del poder eléctrico fue utilizado (100%). El rendimiento de la extracción (%RE) el grado de esterificación (%GE) y el contenido de ácido anhidrogalacturónico (AAG%) fueron evaluados, así como la identificación de la pectina mediante una espectrofotometría FT-IR. La extracción con HAUS afectó el %RE de la pectina ($p<0.05$), mostrando los mayores valores (6.4%) que con la HA (2.6%). El %GE de la pectina con HAUS fue mayor al 80.58 %, mientras que con HA se alcanzó un 70.66%, por lo que se consideró como una pectina de alto metoxilo ya que cuenta con un GE mayor al 50%. La espectrofotometría permitió observar que a mayor tiempo de extracción, menor el porcentaje de transmitancia (%T) para un mismo tiempo, así, un menor %T, una mayor concentración de pectina. La extracción con HAUS puede ser considerada como una herramienta útil para la extracción de pectinas a partir de la guayaba.

ABSTRACT:

The acid extraction (citric acid; pH=3) assisted with ultrasound of pectin from guava was evaluated. An acid hydrolysis extraction (AH) and assisted with ultrasound (AHUS) were carried out at three different times (10, 30 and 40 minutes) at constant temperature ($75\pm 0.1^{\circ}\text{C}$), A maximum of electrical power (100%) was used in the ultrasonic procedure. The extraction yield (%Y) the degree of esterification (%DE) and the content of anhydrous galacturonic acid (AAG%) were evaluated, as well as, the identification of pectin by FT-IR spectrophotometry. The AHUS extraction affects the %Y pectin ($p<0.05$), showing the highest values (6.4%) than with AH (2.6%). The %DE of pectin with AHUS was higher than 80.58%, while a 70.66% with a HA was reached, so it was considered a high methoxyl pectin since it has a greater than 50% of DE. The spectrophotometry showed that, the longer the extraction, the lower the percent transmittance (%T) for the same time, therefore, for a lower %T, greater the concentration of pectin. Thus, the HAUS extraction can be considered a useful tool for extracting pectins from guava.

Palabras clave: Ultrasonido, Extracción, Hidrólisis Ácida.

Keywords: Ultrasound, extraction, Acid Hydrolysis.

Área: Otros.

INTRODUCCIÓN.

Las pectinas son compuestos de alto peso molecular, hidrosolubles de origen vegetal presentes en la pared celular con predominancia en la lámina media de fuentes naturales como son las frutas y verduras. Asimismo, se consideran un polisacárido complejo insoluble en alcohol y disolventes orgánicos, constituido por ácido D-galacturónico unido por enlaces α -1,4 el cual se encuentra parcialmente esterificado por grupos metilo. Dichos compuestos, resultan de gran interés ya que por un lado, son considerados como ingredientes funcionales, es decir, que tienen la capacidad de disminuir y prevenir enfermedades crónicas degenerativas (cardiovasculares, metabólicas y digestivas). Por otra parte, resultan altamente demandados por parte de la industria alimentaria como espesante y gelificante ya que, posee la capacidad de formar geles en un medio ácido (Wang *et al.*, 2014). Las pectinas se extraen a altas temperaturas para hidrolizar la protopectina usando ácidos como el sulfúrico, fosfórico, nítrico, clorhídrico o cítrico. Después de la concentración, la pectina se precipita con la adición de alcohol, se seca, se granula y finalmente se tamiza (Woo *et al.*, 2010). A comparación de las tecnologías tradicionales existen técnicas nuevas las cuales permiten asistir el proceso de extracción, es este el caso de los Ultrasonidos de Alta Intensidad ya que se les considera una técnica nueva la cual permite que los compuestos a buscar se desprendan de una forma adecuada de la pared celular sin que pierdan sus propiedades esenciales (Abid *et al.*, 2014). No obstante, existen factores como lo son las condiciones del proceso y la naturaleza del alimento los cuales influyen en la pérdida de compuestos de interés en los alimentos, lo que lleva a explorar los procesos de extracción para así demostrar el potencial que esta técnica actual promete. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue obtener pectinas mediante Hidrólisis Ácida asistida con Ultrasonidos de Alta Intensidad (USAI) a partir de guayaba (*Psidium guajava L. var. Media China*).

MATERIALES Y MÉTODOS.

Para la obtención de pectina se analizó un lote de guayaba variedad Media China obtenida en un mercado del estado de Puebla (México). Se aplicaron la extracción convencional con Hidrólisis Ácida (HA) y asistida por USAI (HAUS), estableciendo tiempos de 10, 30 y 40 minutos a una temperatura de 75°C con un medio acidulado de ácido cítrico. Las guayabas fueron escaldadas (100°C, 5 minutos) para posteriormente ser almacenadas a 5°C. Así, la extracción con HA se realizó utilizando 5.0 g de muestra en 100 mL del medio acidulado, con ayuda de un medidor potenciómetro (UB-10, Denver Instruments). Las soluciones resultantes se filtraron con ayuda de una tela y se llevaron a una temperatura de 4°C. Por otro lado, la extracción con HAUS se llevó a cabo utilizando una sonda ultrasónica (UP400S, Hielscher Ultrasound), así, se usaron 5.0 g de muestra en 100 mL del medio acidulado y se manejó una amplitud del 100%. La temperatura fue constante (75°C) con la ayuda de un baño de recirculación (AD07R-20, PolyScience).

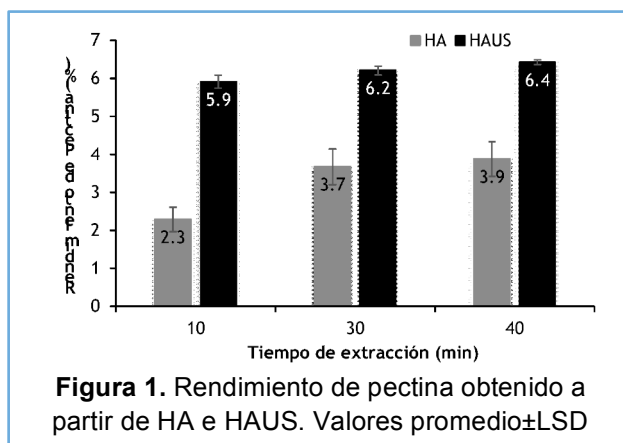
Al caracterizar las pectinas se determinó el rendimiento (%) en relación al peso de pectina obtenida con respecto al peso de la muestra seca.

Se determinó el peso equivalente y el contenido de metoxilo según el método propuesto por Owens (1952), para posteriormente calcular el contenido de Ácido Anhidrogálicurónico (AAG). El grado de esterificación se determinó por el método de Ranganna (1986). Finalmente, para la identificación de los grupos funcionales propios de la pectina se ocupó un espectrofotómetro de infrarrojo (One FT-IR, Perkin Elmer Precisely) con 100g de muestra seca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Rendimiento de extracción

Los resultados obtenidos en el rendimiento de la pectina en función del tiempo de extracción convencional y la asistida con ultrasonidos se muestran en la Figura 1.



El tiempo de extracción para ambas técnicas (HA y USAI) mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los 10 y 30 minutos de tratamiento, siendo constante a tiempos largos (30 y 40 minutos), por lo que para las extracciones por arriba de los 30 minutos, se obtienen mayores rendimientos de pectina, siendo los valores promedio de 3.8 para HA y 6.3 para HAUS. Por otro lado, cuando ambas técnicas son comparadas, se pudo observar que para todos los tiempos de tratamiento, la extracción USAI obtuvo ($p < 0.05$) los mayores porcentajes de rendimiento, así, para un tiempo de 10 minutos, la diferencia entre ambos tratamientos fue del 61.02%, mientras que para los 30 y 40 minutos los porcentajes promedio de rendimiento obtenido fue de 40.33 y 39.07%, respectivamente.

La cantidad de compuestos bioactivos obtenidos mediante el tratamiento asistido con USAI se puede ver influenciado por el tiempo de extracción, ya que implica una mejora en la transferencia de materia, lo que favorece a la obtención de una cantidad mayor de compuestos obtenidos. Sin embargo, la cantidad de compuestos puede llegar a disminuir con la aplicación de tiempos muy prolongados en conjunto con potencias ultrasónicas altas ya que resulta posible una degradación de compuestos debido a reacciones de sonólisis provocados por la onda ultrasónica ocupada.

Contenido de Ácido Anhidrogalacturónico (AAG).

La Tabla I, muestra los porcentajes obtenidos del contenido de AAG para cada tratamiento a diferentes tiempos de extracción. El tratamiento con HA solo mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los 10 y 30 minutos de extracción, mientras que la extracción asistida con USAI a los 40 minutos.

Tabla I. Determinación del contenido de AAG (%) de pectina obtenida a partir de guayaba

Tiempo de extracción	Tratamiento	
	HA	HAUS
10	26.39±0.61 ^{aA}	28.39±0.40 ^{aB}
30	29.32±0.42 ^{bA}	29.45±0.21 ^{aB}
40	29.68±0.53 ^{bA}	30.74±0.81 ^{bA}

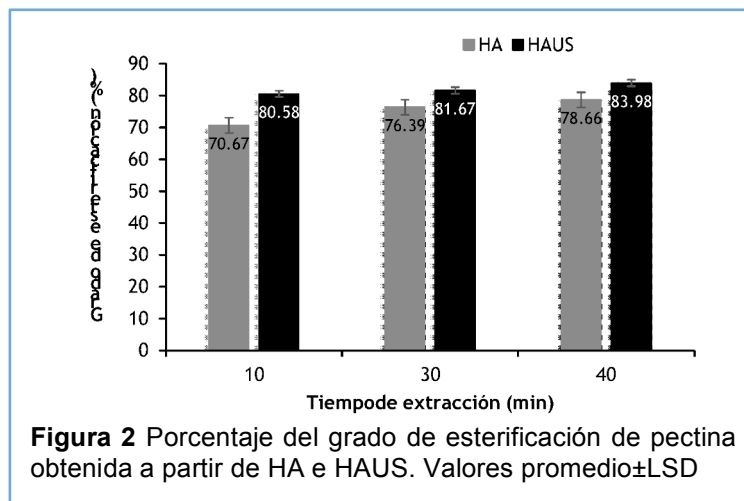
Valores promedio±desviación estándar (n=3). Diferentes letras (a, b, c) en la misma columna muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tiempos de extracción para un solo tratamiento. Diferentes letras (A, B, C) en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos para un solo tiempo.

Además, para todos los tiempos, el porcentaje de AAG fue significativamente mayor ($p < 0.05$) con la extracción asistida con USAI. El porcentaje de AAG nos permite identificar la pureza de la pectina extraída por lo que se infiere que el efecto de la cavitación además de permitir una mayor obtención de pectina, influyó en la pureza de la misma. No obstante, los porcentajes promedio de AAG obtenidos en el presente trabajo (28.46 y 29.53% para la HA y USAI, respectivamente) resultaron por debajo de los reportados por Ahmad & Rongen (2014) (67.4% a 82.1%) y por Chacín & Marín (2010) los cuales se encuentran del 50.48±0.35% a 51.54±0.60%.

En este estudio el bajo contenido de AAG en las pectinas obtenidas puede deberse a la presencia de azúcares neutros los cuales están unidos a la cadena principal del AGA por uniones glicosídicas 1,2, asimismo estos azúcares causan ramificaciones o plegamientos en las moléculas y se dificulta que se alineen e interactúen para formar zonas de unión, dichos azúcares posiblemente se encuentran a partir de la precipitación de la pectina por etanol. Otro factor en el bajo contenido de AAG puede deberse a la presencia de altas cantidades de proteínas solubles (Ahmad & Rongen, 2014).

Grado de esterificación (GE)

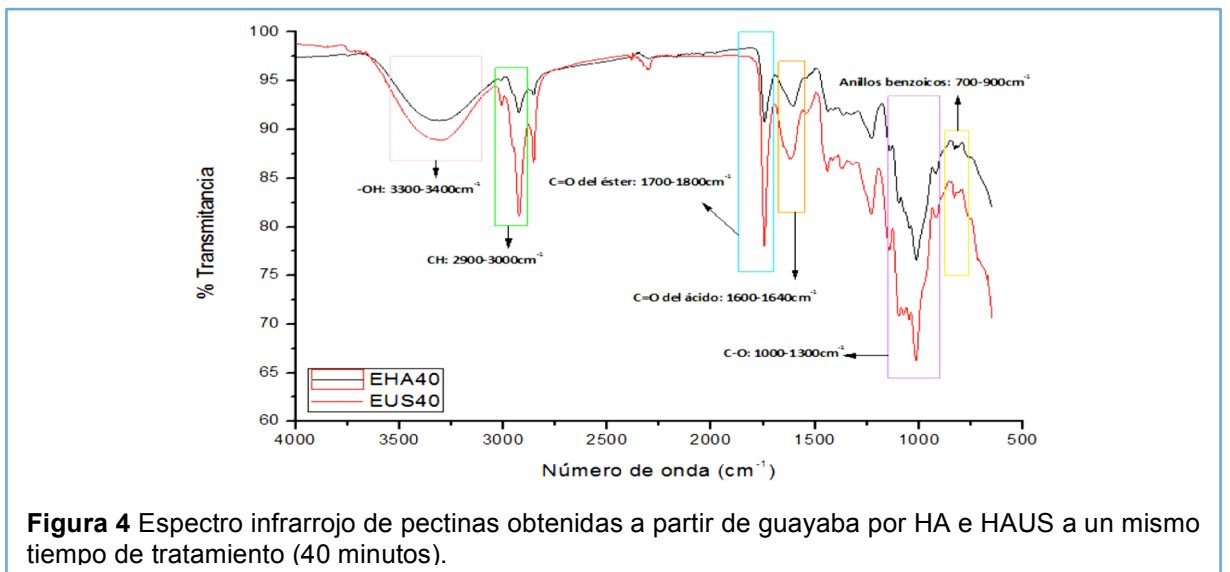
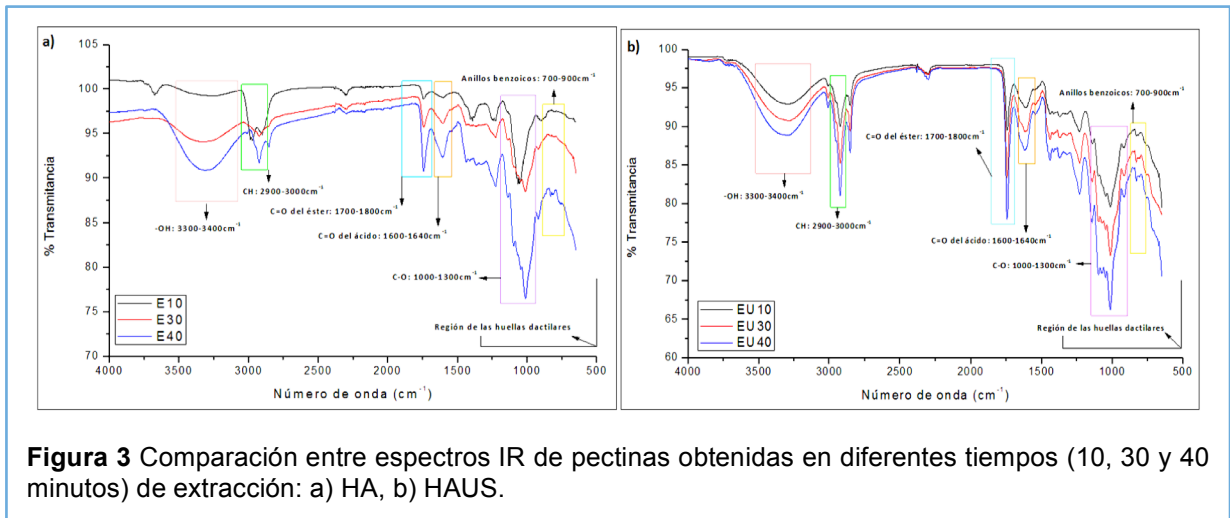
La Figura 2 muestra que el tiempo de extracción influyó significativamente ($p < 0.05$) sobre el porcentaje del GE a partir de los 30 minutos de tratamiento para aquellas muestras en las que la extracción de pectina se llevó a cabo con HA, caso contrario para aquellas tratadas con HAUS.



Sin embargo, las diferencias entre las técnicas de extracción fueron evidentes para todos los tiempos de tratamiento, obteniendo los mayores valores para aquellas muestras tratadas con HAUS, obteniendo valores promedio del 82.07%, mientras que la HA obtuvo un promedio del 75.24%. Es así, como los valores obtenidos en el presente estudio tanto para la HA como la HAUS se encuentran por encima de los reportados por Camacho *et al.* (2010) los cuales son de 77.1% en muestras de guayaba Regional Roja, asimismo que los reportados por Ahmad & Rongen (2014) (53.4%) en muestras de cáscara de guayaba. Por lo tanto, dichos compuestos presentan un alto GE para ambos tratamientos (HA e HAUS), esto se debe a la posible presencia de otros grupos funcionales (etoxilos) además de los que componen estructuralmente a las pectinas, los cuales al unirse con los grupos carboxilos libres unidos al ácido galacturónico llegan a formar complejos que permiten que se genere una alta esterificación entre estos. Asimismo, se infiere que el grupo ácido que compone dichos polisacáridos esté reaccionando de forma diferente a la normal durante los procesos de hidrolización ácida provocando la posible formación de grupos amidas, lo que influye en éste parámetro.

Espectrofotometría IR de pectinas obtenidas a partir de HA e HAUS

Los espectros IR mostraron que tanto para la extracción mediante HA (Figura 3a) como para la HAUS (Figura 3b) las vibraciones de tensión de los diferentes grupos funcionales correspondieron a aquellos que conforman una pectina. De la misma manera, se pudo observar que el porcentaje de transmitancia se vio afectado por los diferentes tiempos de extracción, por lo que para un tiempo de 40 minutos, menor es el porcentaje de transmitancia como consecuencia de que existió una mayor presencia de sólidos, los cuales no permitieron el paso de la luz, por lo que a mayor tiempo de extracción, mayor el contenido de sólidos y menor es la transmitancia.



Finalmente, se observó (Figura 4) que para un mismo tiempo de extracción (40 minutos), los espectros IR mostraron que si existen diferencias entre las técnicas de extracción. Así, para el espectro correspondiente a la muestra extraída con HAUS, éste mostró lo menores porcentajes de transmitancia de sus respectivos grupos funcionales, infiriendo que el fenómeno de cavitación generado por las ondas ultrasónicas, intensificó la transferencia de masa, por lo que se obtuvo una mayor concentración de sólidos y por lo tanto, un menor paso de la luz, a diferencia de la HA. Asimismo, los ultrasonidos en conjunto con altas temperaturas podrían estar provocando un proceso de despolimerización (Delgado, 2015) el cual ocasiona la ruptura de enlaces entre las estructuras químicas de la pectina dando origen a un aumento en la cantidad de grupos funcionales presentes en la misma.

Por lo tanto, se concluye que la extracción ácida asistida con ultrasonidos (HAUS) en comparación con una técnica de extracción ácida convencional (HA), puede ser considerada como una técnica más eficaz, capaz de proporcionar pectinas obtenidas de guayaba con una considerable reducción del tiempo de extracción en comparación con la técnica de extracción convencional.

BIBLIOGRAFÍA.

- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M., Hu, B., Lei, S., & Zeng, X. 2014. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(1), 93–97.
- Ahmad, S., & Rongen, H. 2014. Extraction And Characterization of Pectin From Guava Fruit Peel. *International Journal of Research in Engineering & Advanced Technology*, 2(1). 1-7.
- Camacho, M., Espinal, M., García J. Jiménez L., Silva, K., & Restrepo, P. 2010. Desarrollo de productos enriquecidos con fibra de guayaba. Desarrollo de productos funcionales promisorios a partir de la guayaba (*Psidium guajava* L.) para el fortalecimiento de la cadena productiva, 157–174.
- Chacín, J., & Marín, M. 2010. Evaluación del contenido de pectina en diferentes genotipos de guayaba de la zona sur del Lago de Maracaibo. *Multiciencias*, 10(1).
- Owens, H. 1952. Methods used at Western Regional Research Laboratory for extraction and analysis of pectic materials.
- Ranganna, S. 1986. Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. Tata McGraw-Hill Education.
- Wang, X., Chen, Q., & Lü, X. 2014. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocolloids*, 38, 129–137.
- Woo, K., Chong, Y., Hiong, S., Li, & Tang, P. 2010. Pectin Extraction and Characterization from Red Dragon. *Journal of Biological Sciences*, 10(7), 631–636.