

Evaluación de pectina extraída del albedo y exocarpio de limón Tahití y naranja agria para emulsiones farmacéuticas

Evaluation of Pectin extracted from the albedo and exocarp of Tahiti lemon and sour orange for pharmaceutical emulsions

José L. Prado Arroliga^{1*}, Taryn D. Suazo Ubieta², Gabriela V. Obando Chávez¹, Isayana A. Muñoz Barberena¹

¹Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Departamento de Química, Nicaragua

²Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Centro de Investigación en Biotecnología, Nicaragua

Fecha de recepción: 6 de septiembre de 2024. **Fecha de aceptación:** 30 de octubre de 2024.

***Autor de correspondencia:** jose.prado@unan.edu.ni

Resumen. La investigación se centró en la evaluación de la pectina extraída del albedo y exocarpio de limón Tahití y naranja agria como agente emulsificante, destacando su potencial para mitigar el desperdicio de subproductos agroindustriales en Nicaragua. Utilizando el método Taguchi para optimizar la extracción por hidrólisis ácida con ácido cítrico, se determinaron condiciones óptimas de extracción: para limón Tahití a 60°C, pH 1.75, y 70 minutos, y para naranja agria a 80°C, pH 1.75, y 85 minutos, logrando rendimientos de pectina del 44.12% y 26.92%, respectivamente. La identificación cualitativa confirmó la presencia de pectina mediante pruebas de formación de gel. La caracterización reveló un grado de metoxilo de aproximadamente 5.87% para limón Tahití y 5.33% para naranja agria, y grados de esterificación de 79.33% y 71.27%, respectivamente, con contenidos de ácido galacturónico del 46.32% y 46.84%. Las pruebas de emulsificación demostraron que las pectinas podían estabilizar emulsiones genéricas, con concentraciones efectivas del 1% para limón Tahití y 1.25% para naranja agria, manteniendo la estabilidad a temperatura ambiente. Este estudio no solo propone una solución sostenible para aprovechar subproductos agroindustriales, sino que también abre nuevas aplicaciones industriales para la pectina, contribuyendo al desarrollo económico y ambientalmente responsable de la región.

Palabras clave. Albedo, emulsión, exocarpio, hidrólisis, limón Tahití, naranja agria, pectina,

Abstract. The research focused on evaluating pectin extracted from the albedo and exocarp of Tahiti lime and bitter orange as an emulsifying agent, highlighting its potential to mitigate agro-industrial by-product waste in Nicaragua. Using the Taguchi method to optimize extraction via acidic hydrolysis with citric acid, optimal extraction conditions were determined: for Tahiti lime at 60°C, pH 1.75, and 70 minutes, and for bitter orange at 80°C, pH 1.75, and 85 minutes, achieving pectin yields of 44.12% and 26.92%, respectively. Qualitative identification confirmed the presence of pectin through gel formation tests. Characterization revealed a degree of methoxylation of approximately 5.87% for Tahiti lime and 5.33% for bitter orange, and degrees of esterification of 79.33% and 71.27%, respectively, with galacturonic acid contents of 46.32% and 46.84%. Emulsification tests demonstrated that the pectins could stabilize generic emulsions, with effective concentrations of 1% for Tahiti lime and 1.25% for bitter orange, maintaining stability at room temperature. This study not only proposes a sustainable solution for utilizing agro-industrial by-products but also opens new industrial applications for pectin, contributing to the region's economic and environmentally responsible development.

Keywords. Albedo, emulsion, exocarp, hydrolysis, Tahiti lime, bitter orange, pectin.

1. Introducción

Los suelos de Nicaragua ofrecen condiciones óptimas para el cultivo de diversas frutas, entre las que destacan los cítricos, como el limón Tahití (*Citrus x latifolia*) y la naranja agria (*Citrus aurantium L.*). Según datos del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA) [1], en el país se destinan unas 30,000 manzanas de tierra al cultivo de cítricos cada año, con un enfoque predominante en satisfacer la demanda nacional. Estas frutas son particularmente apreciadas por su contenido abundante en vitamina C, flavonoides, aceites esenciales y fibra soluble, lo que las convierte en una valiosa fuente de compuestos bioactivos con múltiples aplicaciones potenciales, tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica.

Sin embargo, a pesar del potencial productivo, existe una problemática relacionada con el desperdicio de subproductos generados por la industria procesadora de jugos de cítricos, como el limón Tahití y la naranja agria. Estos subproductos, que incluyen el exocarpio, el endocarpio y las semillas, son desechados sin considerar su posible utilidad como recurso orgánico o su impacto ambiental. Esta práctica resulta en la pérdida de una valiosa materia prima y contribuye a la contaminación del medio ambiente [2].

La pectina, uno de los principales componentes de la pared celular de los cítricos, se encuentra en mayor concentración en el exocarpio y el albedo. La pectina posee propiedades espesantes y gelificantes que la hacen muy útil en la industria farmacéutica, donde se emplea en la producción de tabletas, cápsulas, pastillas, hidrogeles y como agente emulsificante [3]. Además, se ha demostrado su eficacia en el tratamiento de infecciones intestinales agudas, en la eliminación de sustancias radioactivas y en el fortalecimiento del sistema inmunológico.

Ante esta situación, la presente investigación se propuso aprovechar los residuos agroindustriales del albedo y el endocarpio del limón Tahití y la naranja agria para la extracción de pectina. Dado que no se encontraron registros de empresas dedicadas a la producción de este insumo a nivel nacional, se evaluó el rendimiento de la pectina obtenida mediante hidrólisis ácida de ambos cítricos, así como su caracterización y su eficacia como agente emulsificante en una emulsión farmacéutica. Este enfoque no solo busca dar valor agregado a los subproductos de la industria citrícola, sino también contribuir a la sostenibilidad ambiental y al desarrollo de nuevas alternativas en el campo de la farmacéutica.

2. Metodología

El estudio propuesto es un diseño experimental con un enfoque analítico. Se determinó el porcentaje de humedad de la muestra (albedo y exocarpio de limón Tahití y naranja agria), el método de extracción utilizado y las condiciones experimentales empleadas. También se interpretaron los resultados de extracción bajo condiciones específicas, analizando las variables manipuladas para comprender detalladamente los procedimientos y los resultados obtenidos, lo que ayuda en la interpretación y generación de conclusiones significativas.

Inicialmente, la investigación es descriptiva, caracterizando la pectina y su funcionalidad como agente emulsificante, además de analizar la relación entre sus propiedades y efectividad mediante la manipulación de factores que influyen en el proceso de extracción y su rendimiento. Temporalmente, la investigación es de corte transversal, realizada en un único momento, y prospectiva, ya que, aunque hay antecedentes internacionales, las propiedades de los cítricos pueden variar según la zona geográfica, lo que sugiere que los resultados encontrados son nuevos.

La población del estudio consistió en todas las variedades de frutos cítricos recolectados en la finca Santa Martha, ubicada en Nandaime, comunidad El Empalme Grajinan, con una extensión de 8 hectáreas. Las muestras seleccionadas fueron limón Tahití (*Citrus x latifolia*) y naranja agria (*Citrus x aurantium L.*) de los lotes 2 y 3 de la finca, elegidas por sus óptimas condiciones físicas mediante un muestreo intencional basado en un protocolo específico. Los criterios de inclusión consideraron plantas de limón Tahití y naranja agria con frutos de color verde oscuro intenso, mientras que se excluyeron las frutas magulladas, con plagas y enfermedades, teñidas, o con maduración acelerada por agentes químicos. Las variables independientes incluyeron las condiciones de extracción, la dosificación de pectina en emulsión y el tipo de emulsión; y las variables dependientes fueron el rendimiento de pectina, la calidad de pectina y su efectividad como agente emulsificante.

2.1. Acopio, preparación y caracterización de la muestra

Para la fase de campo, recolección y preparación de la muestra, se siguieron las recomendaciones del IPSA [1] utilizando una ficha de campo y materiales para el transporte y limpieza de la materia prima. Los pasos fueron los siguientes: i) se recolectaron 30 limones Tahití y 30 naranjas agrias cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión, cortándolos manualmente sin dañar el fruto; ii) las muestras se colocaron en un termo para su transporte seguro; iii) se lavaron con agua y jabón, eliminando impurezas, y se secaron con papel toalla;

iv) luego se almacenaron en otro termo previamente lavado con agua, jabón y cloro; v) se retiraron manualmente la cáscara y el albedo con una cuchilla; vi) finalmente, se extrajo el jugo y se almacenó en envases plásticos.

El contenido de humedad en el albedo y exocarpo de limón Tahití y naranja agria influye significativamente en la extracción de pectina. Un nivel adecuado de agua puede mejorar el rendimiento de extracción al facilitar la liberación de pectina y su interacción con los solventes, mientras que niveles excesivos pueden diluir la pectina y afectar su calidad, y niveles demasiado bajos pueden resultar en una extracción incompleta [4]. La actividad enzimática y las condiciones de almacenamiento también se ven afectadas por el contenido de humedad, subrayando la importancia de controlar y optimizar este factor. El procedimiento para medir la humedad incluye encender y estabilizar la Termobalanza Electrónica de Humedad "Eurotherm", configurarlo para el secado a 110 °C durante 15 minutos, colocar la muestra en la termobalanza y programarla, iniciar el secado y, tras finalizar, anotar el porcentaje de humedad (%H) y el porcentaje de residuo sólido (%RS).

La inactivación enzimática del albedo y exocarpo de cítricos es un proceso para detener la actividad enzimática natural en estas partes de la fruta, que de otra manera podría causar cambios no deseados en la textura, sabor y color del producto final durante el procesamiento y almacenamiento. Este proceso se logra generalmente mediante la aplicación de calor, como el tratamiento térmico (blanqueado o escaldado) o el tratamiento con vapor. El procedimiento implementado es el que establece [5], el cual incluye calentar agua ultra destilada a 100°C en un vaso de precipitación de 2000 mL, pesar la muestra, agregarla al agua y agitar manualmente durante 15 minutos, seguido de colar la muestra.

2.2. Extracción de pectina

En cuanto a las condiciones de extracción de pectina, en este estudio, se seleccionaron 3 factores: pH, tiempo y temperatura; los cuales se trabajan en 3 niveles distintos (bajo, medio, alto). Se destaca que estas condiciones influyen en el proceso de extracción de pectina con respeto al porcentaje de rendimiento, debido a que un pH ácido favorece la extracción de pectina, temperaturas moderadas aumentan su solubilidad y un tiempo prolongado puede aumentar el rendimiento, pero debe evitarse la sobre extracción para prevenir la degradación de la misma [6]. Se establecieron 9 experimentos por la combinación de variables en el diseño de experimento que se muestra en la tabla 1 y 2.

Tabla 1. Corridas experimentales para la muestra de Limón Tahití

Código	Temperatura (°C)	pH	Tiempo (min)
MLT1	40	1.75	55
MLT2	40	2.20	70
MLT3	40	3.80	85
MLT4	60	1.75	70
MLT5	60	2.20	85
MLT6	60	3.80	55
MLT7	80	1.75	85
MLT8	80	2.20	55
MLT9	80	3.80	70

Tabla 2. Corridas experimentales para la muestra de Naranja Agria

Código	Temperatura (°C)	pH	Tiempo (min)
MNA1	40	1.75	55
MNA2	40	2.20	70
MNA3	40	3.80	85
MNA4	60	1.75	70
MNA5	60	2.20	85
MNA6	60	3.80	55
MNA7	80	1.75	85
MNA8	80	2.20	55
MNA9	80	3.80	70

La hidrólisis ácida con ácido cítrico es una técnica comúnmente utilizada para extraer pectina de frutas cítricas, especialmente del albedo y el exocarpo. Se preparan las soluciones de ácido cítrico a las concentraciones indicadas en las tablas 1 y 2, luego se agrega esta solución en proporción 1:2 con las muestras y se calienta a la temperatura y tiempo establecida para cada experimento. Posteriormente, se filtra la solución con un colador de tela y se añade alcohol isopropílico en una proporción 1:2 con la muestra, dejándola reposar por 10 minutos. Después, se lava el precipitado con alcohol etílico al 70%, se seca en bandejas de aluminio a 60°C por 24 horas, se tritura y reduce su tamaño con un mortero. Por último, se tamiza para eliminar impurezas, se pesa el polvo resultante junto con el residuo, y finalmente se envasa y almacena la pectina en vasos estériles para evitar contaminación. Este método se adapta de varias fuentes, incluidas [5][7][8].

El rendimiento se determinó dividiendo el peso de pectina molida entre el peso de cáscara seca por el cien por ciento, esto se realizó para todos los tratamientos utilizando la ecuación 1 [9].

$$R = W_2/W_1 * 100\% \quad (1)$$

Donde:

R es el porcentaje de rendimiento de pectina.

W_1 representa el peso de la muestra.

W_2 es el peso de la pectina obtenida.

2.3. Ensayos control para la identificación de pectina

Se utilizaron los métodos de la Farmacopea Argentina, Volumen 2, 8^{va} edición [10], para realizar cuatro ensayos de identificación de los extractos de limón Tahití y naranja agria. Se realizaron cuatro pruebas de identificación de pectina:

- Se disolvió 1 g de pectina en 9 mL de agua destilada y se sometió a baño maría para obtener un gel espeso al enfriarse.
- En una solución de pectina 1:100 en alcohol etílico, se observó la formación de un precipitado gelatinoso y transparente.
- Se preparó una solución de pectina 1:100 en agua, a partir de la cual se tomaron 5 mL y se les agregó 1 mL de NaOH 2N. Después de reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente, se formó un gel o semigel.
- Se acidificó el gel obtenido en el ensayo anterior con 2 mL de HCl 3N, resultando en la formación de un precipitado voluminoso gelatinoso. Luego, se calentó la mezcla hasta ebullición, produciendo un precipitado floculante de color blanco.

2.4. Ensayos para la prueba de gelificación

Se llevaron a cabo ensayos para evaluar la capacidad de gelificación de la pectina extraída, siguiendo los parámetros de control descritos por [11]. Se prepararon tres muestras control: un control negativo con 10 mL de jugo de piña, un primer control con jugo de piña y azúcar para reducir la gelificación, y un segundo control con jugo de piña y alcohol etílico para aumentar la viscosidad y observar la formación de hojuelas de pectina. Además, se realizaron pruebas de gelificación con jugo de piña y la pectina de limón Tahití y naranja agria, variando las concentraciones entre 1%, 3% y 5%, utilizando códigos para identificar cada muestra, como se indica en la tabla 3.

Tabla 3. Codificación para la prueba de gelificación

(%)	Masa de pectina (g)	Limón Tahití	Naranja agria
1	0.1	PL1,1	PN1,1
		PL1,2	PN1,2
3	0.3	PL3,1	PN3,1
		PL3,2	PN3,2
5	0.5	PL5,1	PN5,1
		PL5,2	PN3,2

PL1,1: pectina de limón Tahití 1% muestra 1, PN1,1: pectina de naranja agria 1% muestra 1; el número 2 significa la réplica de cada prueba; el número 3 y 5 las concentraciones

2.4. Caracterización de la Pectina

Se realizó según Farmacopea Argentina 8^{va} edición [10], la cual indica que el proceso de valorización de la pectina por saponificación implica medir la cantidad de base fuerte (NaOH) necesaria para saponificar la pectina presente en una muestra. Por lo que, a partir de la cantidad de NaOH utilizada en la titulación, se puede calcular la cantidad de pectina presente en la muestra mediante la estequiometría de la reacción de saponificación. El procedimiento consiste en pesar una muestra de 5 g de pectina y transferirla a un vaso de precipitado de 250 mL. Luego, se humecta la muestra con 2 mL de alcohol etílico al 99.99% y se agrega 100 mL de agua destilada, seguido de la adición de 5 gotas de fenolftaleína. Se titula con NaOH 0,1N y se anota el título inicial. Posteriormente, se adicionan 20 mL de NaOH 0.5N, se agita y se deja reposar durante 15 minutos. Después, se añaden 20 mL de HCl 0.5N y se agita la solución valorada hasta que desaparezca el color. Se vuelve a agregar fenolftaleína y se titula con 0.1N hasta obtener un color rosa tenue.

Este resultado permite calcular el grado de esterificación (ecuación 2), grado de metoxilo (ecuación 3) y ácido galacturónico (ecuación 4), lo cuales son los criterios de aceptación que tiene la pectina [12].

$$\% \text{ de ácido galacturónico} = 19,41 * [(V_i + V_s)/W] * 100\% \quad (2)$$

$$\% \text{ grado de esterificación} = [(V_i + V_s)/W] * 100\% \quad (3)$$

$$\% \text{ grado de metoxilación} = 3,10 * (V_s/W) * 100\% \quad (4)$$

Donde:

V_s es el título de saponificación (mL).

V_i es el título inicial (mL).

W es el peso de la pectina original sin lavar, calculado con respecto a la sustancia seca, tomado para preparar la solución para la valoración.

2.5. Estandarización de dosis de pectina para emulsión de aceite de oliva

Se prepararon emulsiones a diferentes concentraciones con el objetivo de determinar la capacidad de emulsificación óptima. Para la pectina extraída del limón Tahití, las concentraciones evaluadas fueron 0.1%, 0.5% y 1%. En el caso de la pectina obtenida de la naranja agria, se probaron concentraciones de 0.1%, 0.5%, 1% y 1.25%. Las formulaciones correspondientes se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Formulaciones de prueba para determinar la concentración de pectina en emulsión de aceite de oliva

Formulación para 0.1%	Formulación para 0.5%
Aceite de oliva 87.5 mL Pectina 0.25 g Jarabe simple 25 mL Vainillina 0.1g Alcohol 15 mL Agua destilada 122.5 mL	Aceite de oliva 87.5 mL Pectina 1.25 g Jarabe simple 25 mL Vainillina 0.1g Alcohol 15 mL Agua destilada 121.5 mL
Formulación de 1%	Formulación 1.25% para Naranja agria
Aceite de oliva 87.5 mL Pectina 2.5g Jarabe simple 25 mL Vainillina 0.1g Alcohol 15mL Agua destilada 119.9 mL	Aceite de oliva 87.5 mL Pectina 3 g Jarabe simple 25 mL Vainillina 0.1g Alcohol 15mL Agua destilada 118.9 mL

El proceso de preparación de la emulsión se divide en cuatro etapas. En la primera etapa, la pectina se disuelve en alcohol y se deja reposar para asegurar una completa disolución. Luego, en la segunda etapa, se mezcla el aceite de oliva con el jarabe simple para integrarlos completamente. En la tercera etapa, esta mezcla se agrega lentamente a la dispersión de pectina/alcohol mientras se agita constantemente para formar la emulsión. Finalmente, en la cuarta etapa, se añade vainillina en alcohol para aromatizar y se diluye gradualmente la emulsión hasta alcanzar la consistencia deseada, asegurando la incorporación completa de todos los ingredientes. Luego se deja en reposo y se anota la homogeneidad de fases en función del tiempo.

3. Resultados y discusión

3.1. Controles de calidad de la muestra

La humedad de la materia prima puede influir significativamente en el proceso de extracción debido a que la materia prima demasiado seca puede dificultar la extracción completa de la pectina, mientras que la materia prima demasiado húmeda puede diluir el extracto y reducir la concentración de pectina obtenida [13].

La figura 1 muestra el porcentaje de humedad del albedo y exocarpio de limón Tahití (*Citrus x latifolia*) y naranja agria (*Citrus aurantium L*) para mejorar el rendimiento de la extracción por hidrólisis ácida y evaluar la calidad de la muestra. Se encontró que el limón Tahití de Nicaragua tenía un 53.96% de humedad, mientras que el de Ecuador registró un 87.4% [14]. La naranja agria mostró un 68.8% de humedad, comparado con un 83.35% reportado por [15]. Las variaciones climáticas, como temperatura y humedad en regiones

tropicales, influyen en el contenido de humedad de los cítricos. Mantener la humedad del suelo desde la floración hasta la cosecha es crucial para el buen desarrollo de la fruta [16].

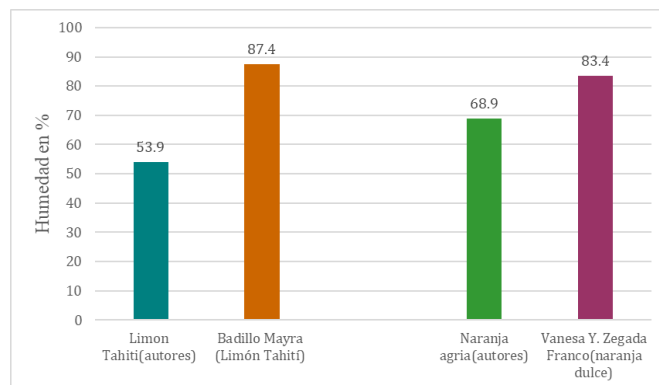


Figura 1. Porcentaje de humedad.

3.2. Resultados del experimento con Taguchi

Según la variable de respuesta para el porcentaje de rendimiento mediante el método de Taguchi la temperatura, pH y tiempo, muestran efectos en la optimización de los experimentos considerando los parámetros que determinan la calidad del producto y el rendimiento del proceso.

En la tabla 5 se muestran los resultados de la variable de respuesta para el porcentaje de rendimiento en la extracción de pectina obtenida por hidrólisis ácida del albedo y exocarpio de limón Tahití (*Citrus x latifolia*) y para naranja agria (*Citrus aurantium L*). Se concluye que las condiciones óptimas para la extracción de pectina en limón Tahití se lograron en el experimento de extracción MLT2, al reunir los factores adecuados. Por otro lado, las condiciones óptimas para la extracción de pectina en naranja agria se alcanzaron en el experimento de extracción MNA3.

Tabla 5. Resultados para extracción de pectina a base de limón Tahití y naranja agria

Código	Rendimiento (BS%)	Código	Rendimiento (BS%)
MLT1	0.70	MNA1	15.3864
MLT2	44.12	MNA2	6.3326
MLT3	14.57	MNA3	26.9241
MLT4	2.91	MNA4	2.9210
MLT5	17.73	MNA5	14.8835
MLT6	18.47	MNA6	18.9291
MLT7	0.61	MNA7	4.4467
MLT8	7.01	MNA8	4.3236
MLT9	6.50	MNA9	3.9460

En la figura 2 se muestran las condiciones experimentales para determinar el rendimiento óptimo de pectina, analizando la interacción sinérgica de tres parámetros que influyen directamente en el porcentaje de rendimiento. Se observó que cuando la línea no es horizontal, hay un efecto principal, y cuanto mayor es la diferencia en la posición vertical de los puntos graficados, mayor es la magnitud de este efecto.

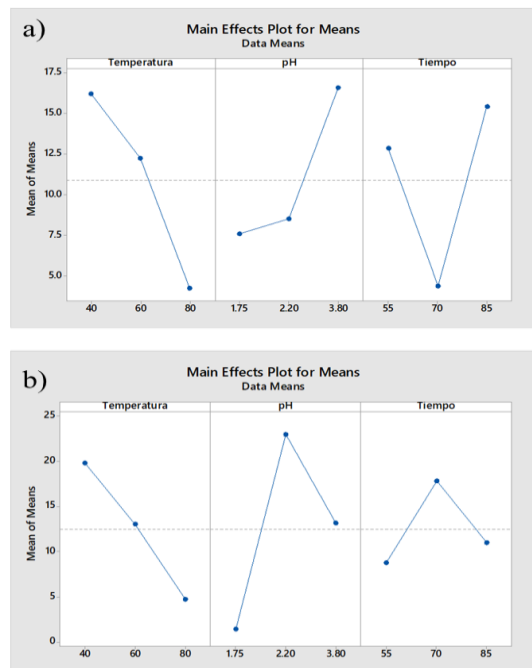


Figura 2. Efecto principal para medidas de extracción de pectina para a) limón Tahití y b) naranja agria.

Para la extracción de pectina del limón Tahití, las condiciones óptimas son: temperatura de 60 °C, pH de 1,75 y tiempo de 70 minutos, con efectos bajos o nulos en el rendimiento. Para la naranja agria, las condiciones óptimas son: temperatura de 80 °C, pH de 1,75 y tiempo de 85 minutos, con un efecto significativamente bajo para la temperatura y el pH, pero un efecto elevado para el tiempo sobre el porcentaje de rendimiento.

3.3. Rendimiento de extracción de pectina

En la figura 3 se comparan los porcentajes de rendimiento de pectina con diferentes estudios utilizando diversas fuentes de limón y naranja agria. El rendimiento de extracción de pectina varía según la variedad de fruta, condiciones de cultivo, método de extracción y otros factores.

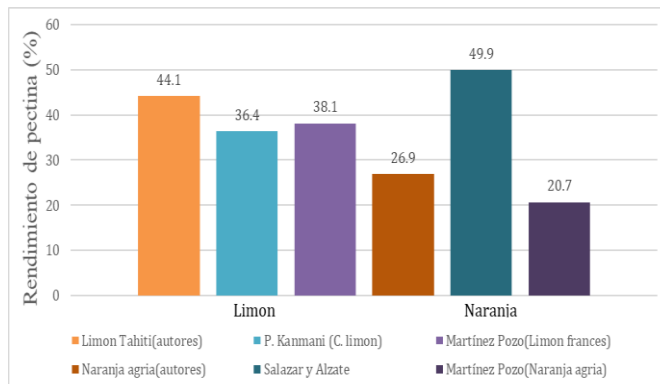


Figura 3. Valores del rendimiento de pectina.

El limón Tahití mostró un rendimiento de 44.12%, superior al 36.41% obtenido por [17], quienes recomiendan extraer primero el aceite de la corteza mediante destilación simple antes de aislar la pectina por hidrólisis ácida. [18] reportó un rendimiento de 38.10%.

La naranja agria presentó un rendimiento de 26.92%, inferior al 49.95% obtenido por [19] usando naranja dulce y un proceso de extracción de aceite esencial previo a la extracción de pectina. Sin embargo, este rendimiento es superior al 20.73% [18] mediante hidrólisis ácida.

El aumento de temperatura y tiempo incrementa el rendimiento, pero reduce el porcentaje de metoxilos debido a la hidrólisis de los ésteres en grupos carboxilos metoxilados, afectando la calidad de la pectina [18]. Temperaturas superiores a 90°C disminuyen el rendimiento por degradación y esterificación de los grupos carboxilos debido a la exposición prolongada al calor.

3.4. Prueba de identificación y gelificación

La prueba A (Tabla 6) evidenció una adecuada formación de gel con un tiempo de gelificación corto, lo que indica que la pectina posee propiedades de gelificación rápidas y efectivas. La disolución se completó en 5 minutos bajo la aplicación de calor. Para lograr una buena solubilidad, es necesario emplear un mezclador de alta velocidad, mantener un contenido de sólidos inferior al 20% en agua y utilizar agua caliente a una temperatura mínima de 80°C, especialmente para soluciones con una concentración de pectina de hasta el 10% [13].

Tabla 6. Pruebas de identificación y gelificación

Observación	Pruebas de identificación		Prueba de gelificación			
	A	B	C-D	1%	3%	5%
Formación de gel firme	✓				✓	✓
Formación de gel débil		✓		✓		
Ausencia de gel			✓			
Tiempo de gelificación corto	✓				✓	✓
Tiempo de gelificación prolongado		✓		✓	✓	
Gel de textura apropiada						✓

La prueba B resultó en una gelificación prolongada y débil, sugiriendo propiedades deficientes de gelificación de la pectina, que formó un precipitado gelatinoso y transparente. La Farmacopea Argentina [10] menciona que la pectina se disuelve mejor si se humedece con alcohol y glicerina previamente.

En la prueba mixta C-D, se realizaron duplicados para diferentes concentraciones de pectina. Siguiendo el protocolo de [20], se observó lo siguiente:

- A 1%, no se formó gel, indicando capacidad limitada o nula de gelificación.
- A 3%, se formó un gel débil con tiempo prolongado, resultando en un precipitado semi gel después de agitación enérgica.
- A 5%, se obtuvo un gel firme con una textura adecuada y tiempo de gelificación corto, formando un precipitado de gel y disolviéndose completamente tras 5 minutos de agitación y 10 minutos de reposo.

3.5. Caracterización de la pectina extraída de ambos cítricos en términos de las propiedades físicas y químicas

3.5.1. Contenido de Ácido Galacturónico

El ácido galacturónico es la unidad fundamental de las sustancias pépticas y su cuantificación es crucial para determinar la cantidad, calidad y pureza de la pectina extraída [6]. En la figura 4, se presentan los resultados del porcentaje de ácido galacturónico del limón Tahití y la naranja agria, comparados con otros estudios.

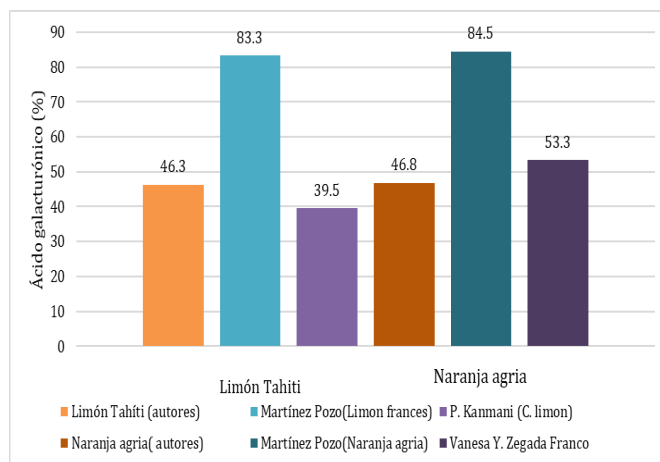


Figura 4. Valores de porcentaje de ácido galacturónico.

El limón Tahití mostró un 46.32% de ácido galacturónico, superior al 39.48% obtenido por [17] bajo condiciones de pH 3.2 y 60°C. Sin embargo, el estudio de [18] reportó un 83.3% de ácido galacturónico, mediante un análisis de varianza que concluyó que temperatura, tiempo y pH no presentaron diferencias significativas.

La muestra de naranja agria tuvo un 46.84% de ácido galacturónico, comparado con el 53.3% obtenido por [15] mediante hidrólisis ácida asistida por microondas, un método eficiente en términos de energía y tiempo, pero con posibles riesgos debido a las ondas electromagnéticas. El estudio de [18] reportó un 84.48%, ambos superiores a los resultados de esta investigación. Bajos valores de ácido galacturónico se deben a impurezas o alto contenido de cenizas [18]. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) [21], la pureza de la pectina debe ser mayor o igual a 65%, y la USP 42 establece valores mayores o iguales a 74%, por lo que los resultados obtenidos están por debajo de estos criterios de aceptación.

3.5.2. Grado de esterificación

El grado de esterificación de la pectina es crucial para sus propiedades funcionales, especialmente en la gelificación. En la figura 5, el grado de esterificación de la pectina de limón Tahití fue del 79.32%, superior al 69.17% reportado por [18] y al 53.8% de [22]. Para la naranja agria, se alcanzó un 71.27%, similar al 73.30% de [15] y superior al 55.90% de [18].

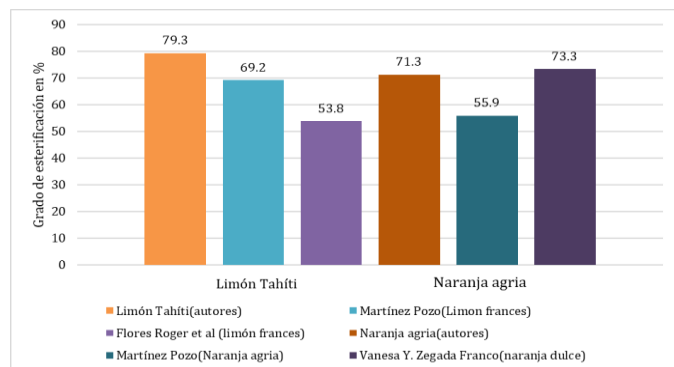


Figura 5. Valores de grado de esterificación.

Una pectina con un grado de esterificación del 75% forma geles en 10 minutos a 85°C, mientras que una con esterificación entre 60% y 65% requiere 20 minutos a 65°C para asentarse [13]. Los valores obtenidos para el limón Tahití indican un alto grado de esterificación, con una gelificación rápida en 7 minutos, comparado con los 12 minutos de la naranja agria, que también muestra un alto grado de esterificación, aunque sin una diferencia significativa respecto a los valores establecidos.

3.5.3. Grado de metoxilo

Las características gelificantes de la pectina están determinadas por su porcentaje de metoxilo. Las pectinas comerciales, con un contenido de metoxilo entre 8% y 11%, pueden formar geles con un 65% de sólidos solubles (sacarosa) [13]. En la figura 6 se muestra que, el porcentaje de metoxilo obtenido para el limón Tahití fue del 5.9%, clasificándola como pectina de bajo metoxilo, ya que está por debajo del 50%. Este valor es inferior al 10.1% reportado por [18], pero superior al 2.3% [17]. La naranja agria presentó un valor de 5.3%, también considerada pectina de bajo metoxilo. Este valor es inferior al 7.4% reportado por [18] y al 7.1% de [15], aunque ambos son cercanos.

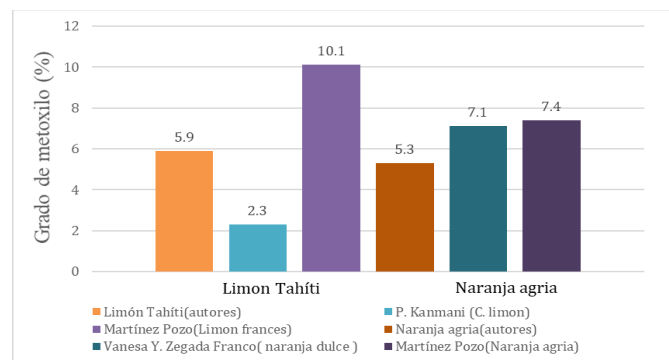


Figura 6. Valores de grado de metoxilo

Según los criterios de aceptación [21], un valor mayor o igual a 6.7% es necesario para considerar una pectina de alto metoxilo. Los valores obtenidos en este estudio están cercanos al límite y también por debajo de los reportados por [18].

3.6. Concentraciones Óptimas de Pectina para Actuar como Agente Emulsificante en una Emulsión Genérica Farmacéutica

El estudio comenzó con una concentración de 0.1% de pectina para evaluar su capacidad como emulsionante en una emulsión aceite en agua (O/W). El objetivo era evitar la separación de las dos fases. Después de 10 minutos de reposo, se observó la separación de las fases, indicando una insuficiente función emulsionante a esta concentración (figura 7).

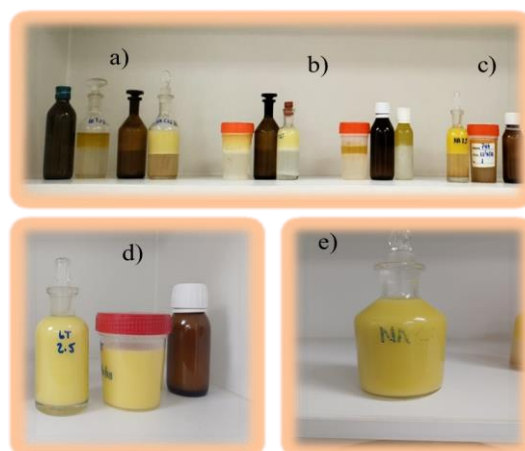


Figura 7. Preparación de emulsiones a diferentes concentraciones de pectina. a) Concentración de pectina 0.1%. b) Concentración de pectina al 0.5%. c) Concentración de pectina de naranja agria al 1%. d) Concentración de pectina de limón Tahití al 1%. e) Concentración de pectina de naranja agria al 1.25%.

Se incrementó la concentración de pectina a 0.5% y se dejó en reposo durante 10 minutos. Sin embargo, tras 15 minutos, las fases comenzaron a separarse en ambas muestras (limón Tahití y naranja agria), evidenciando una mejora insuficiente en la estabilidad de la emulsión.

Con una concentración de 1%, la emulsión se dejó en reposo por 10 minutos. En este caso, la muestra de limón Tahití mostró estabilidad, mientras que la de naranja agria continuó mostrando separación de fases. Posteriormente, se realizó una emulsión con una concentración de 1.25% de pectina para la muestra de naranja agria. Después de 10 minutos de reposo, la emulsión permaneció estable, indicando que una mayor

concentración de pectina es necesaria para mantener la estabilidad en esta muestra.

La diferencia en el comportamiento de las emulsiones se atribuye al grado de esterificación de las pectinas. La pectina de limón Tahití, con un mayor grado de esterificación, mostró una capacidad de gelificación y estabilización a concentraciones más bajas comparada con la pectina de naranja agria. Esto sugiere que el grado de esterificación es un determinante clave para la gelificación y la capacidad emulsionante de la pectina.

4. Conclusiones

Esta investigación ha permitido una evaluación exhaustiva de la pectina extraída mediante el método de hidrólisis ácida del albedo y exocarpio de limón Tahití (*Citrus x latifolia*) y naranja agria (*Citrus aurantium L*) como agente emulsificante en emulsiones farmacéuticas. Se lograron los objetivos planteados, destacando las siguientes contribuciones y hallazgos.

Optimización del proceso de extracción: Mediante la aplicación de la metodología Taguchi, se determinaron las condiciones óptimas para la extracción de pectina, identificando como variables clave la temperatura, el pH y el tiempo. En el caso del limón Tahití, los parámetros ideales fueron 70 minutos, 60 °C y un pH de 1.75; mientras que, para la naranja agria, las condiciones óptimas fueron 85 minutos, 80 °C y un pH de 1.75. Estos ajustes no solo incrementan la eficiencia del proceso, sino que también garantizan la obtención de un producto de alta calidad.

Eficacia del método de hidrólisis ácida: los rendimientos obtenidos de pectina fueron del 44.12% para el limón Tahití y del 26.92% para la naranja agria, evidenciando la efectividad del método con ácido cítrico. Este enfoque contribuye a la reducción de desperdicios y a la valorización de subproductos cítricos.

Caracterización de la pectina: la caracterización física y química de la pectina, incluyendo el grado de metoxilación (5.87% para el limón Tahití y 5.33% para la naranja agria) y el grado de esterificación (79.33% y 71.27%, respectivamente), junto con un contenido de ácido galacturónico del 46.32% y 46.84%, proporciona información crucial para su aplicación en diversas industrias, incluyendo la alimentaria y farmacéutica.

Versatilidad como agente emulsificante: la pectina extraída demostró ser efectiva en la estabilización de emulsiones farmacéuticas, ampliando su potencial en formulaciones de productos farmacéuticos.

Consideraciones finales: este trabajo destaca por su relevancia en la valorización de residuos cítricos y su potencial impacto en la industria farmacéutica. Las ventajas de este

enfoque incluyen la sostenibilidad y la innovación en el uso de biopolímeros. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones en términos de escalabilidad y variabilidad de materia prima.

Recomendaciones para futuros trabajos: se sugiere investigar variaciones en los métodos de extracción y aplicar la pectina en diferentes formulaciones para explorar su versatilidad. Además, se alienta a la comunidad científica a considerar estudios sobre la interacción de la pectina con otros excipientes para optimizar aún más su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento a todas las personas y entidades que contribuyeron al éxito de este proyecto de investigación. En particular, al Departamento de Química por su apoyo con el uso de los laboratorios. Asimismo, reconocemos el invaluable apoyo a Alcides Aragón por facilitar la obtención de la materia prima. Estos agradecimientos reflejan nuestro reconocimiento hacia todos aquellos que han sido parte importante en este camino hacia la innovación y el avance científico.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

REFERENCIAS

- [1] IPSA (2019). "Estrategia nacional para el desarrollo de la producción de frutas 2019 – 2022." [Online]. Available: <https://www.ipsa.gob.ni/Portals/0/Noticias/2019/ESTRATEGIA%20PARA%20EL%20INCREMENTO%20EN%20LA%20PRODUCCION%20DE%20FRUTAS%202019-2021.pdf>
- [2] A. Tovar. "Valorización integral de cascaras de naranja mediante extracción de pectina y elaboración de carbón activado," Tesis, Maestro en Ciencia y Tecnología en la Especialidad de Ingeniería Ambiental, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C., Santiago de Querétaro, 2017. [Online]. Available: <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/191/1/Valorización%20integral%20de%20cáscaras%20de%20naranja%20mediante%20extracción%20de%20pectina%20y%20elaboración%20de%20carbón%20activado.pdf>.
- [3] V. Rubiano, M. Montaña, and N. da Silva, "Pectinas: extracción, usos e importancia en la agroindustria," *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, vol. 6, no. 5, p. 5300, Nov. 11, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i5.3498.

- [4] G. Chamorro. "Extracción y caracterización de pectinas de piel de lima y su uso como estabilizante de emulsiones de aceite en agua," Repositorio Institucional UIB, 2019. [Online]. Available: <http://hdl.handle.net/11201/149794>.
- [5] H. Benitez. "Extracción experimental de pectina de cáscara de limón (citrus limon burmann) cultivado en la provincia gran chaco, tarija," Modalidad de Graduación (Investigación Aplicada), Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, Facultad De Ciencias Y Tecnología, Tarija, 2022. [Online]. Available: <https://dicyt.uajms.edu.bo/investigacion/index.php/quimica/article/view/125/106>.
- [6] C. Danovich. "Extracción de pectina de albedo de limón mediante enzimas pécticas producidas por una levadura autóctona," RIDIUAM, 2019. [Online]. Available: <https://rid.unam.edu.ar/handle/20.500.12219/2781>.
- [7] N. Romero, L. Corzo-Rios, and V. Lozano, "Utilización de un desecho de la producción de jugo de limón persa (citrus latifolia) en la obtención de pectina cítrica," XXVI Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco 2014 y III Simposio Internacional en Producción Agroalimentaria Tropical, Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Bioprocesos, México, 2014. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/271215009_utilizacion_de_un_desecho_de_la_produccion_de_jugo_de_limon_persa_citrus_latifolia_en_la_obtencion_de_pectina_citrica.
- [8] L. Sotelo, G. Arrázola, S. Acosta, and A. Bermúdez, "Extracción y caracterización de pectinas a partir del fruto de Limón Swinglea (Swinglea glutinosa)," Sennova: Revista Del Sistema De Ciencia, Tecnología E Innovación, vol. 2, no. 1, pp. 70–83, Feb. 14, 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.23850/23899573.538>.
- [9] R. Baltazar, N. Baca, and D. Salvador, "Optimización de las condiciones de extracción de pectina a partir de cáscara de limón francés (Citrus medica) utilizando la metodología de superficie de respuesta," Agroindustrial Science, vol. 3, no. 2, pp. 77 - 89, Mar. 13, 2014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2013.02.01>.
- [10] Farmacopea Argentina. "Farmacopea Argentina," Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, s.f.
- [11] Maurizym. "Método de detección de pectina en jugo de fruta" AB BIOTEC, 2020.
- [12] United States Pharmacopeia, "Pectina," United States Pharmacopeia, vol. 2, p. 3527, 2019.
- [13] S. Ferreira, "Pectina: aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial," Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Farmacia, Bogotá, 2017. [Online]. Available: <https://repository.unal.edu.co/handle/unal/12345>. [Accessed: Dec. 18, 2023].
- [14] M. Badillo, "Estudio comparativo del potencial nutritivo del limón persa deshidratado en secador de bandejas y microondas," 2011. [Online]. Available: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/1577/1/56T00258.pdf>.
- [15] V. Zegada, "Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas," Scielo, vol. 1, no. 15, May 20, 2015. [Online]. Available: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2518-44312015000100007.
- [16] INTAGRI, "Clima y Suelo para el Cultivo de Limón Persa," May 5, 2018. [Online]. Available: <https://www.intagri.com/articulos/frutales/clima-y-suelo-para-el-cultivo-de-limon-persa>.
- [17] P. Kanmani, "Extracción y análisis de pectina de cáscaras de cítricos: aumento del rendimiento de limón cítrico utilizando el diseño experimental estadístico," Revista Iranica de Energía y Medio Ambiente, pp. 303-312, 2014.
- [18] L. Pozo, "Estudio del rendimiento y caracterización de pectina obtenida de frutos del género Citrus," Quito, Ecuador, Dec. 2022.
- [19] I. Salazar and C. Cardona, "Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja," Ingeniería y Ciencias, vol. 7, no. 13, pp. 65-86, June 2011. [Online]. Available: <http://www.scielo.org.co/pdf/ince/v7n13/v7n13a04.pdf>.
- [20] LAFFORT, "Protocolo para la pectina detección mediante prueba de pectina" 2014. [Online]. Available: https://laffort.com/wp-content/uploads/Autres/MODOP_ES_Pectintest.pdf.
- [21] Food and Agriculture Organization (FAO). "Residue Monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 82nd," pp. 1-6, 2016. [Online]. Available: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/bq695e.en.es.pdf>.
- [22] Flores and Cajina. "Gel Antiinflamatorio a base de Extracto de Bromelina obtenida por extracción Líquido-Líquido a partir de la piña (Ananas Comosus) variedad Monte Lirio," Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Química, UNAN-MANAGUA, Mar. 2018 - Jul. 2019.