

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA DE CÁSCARA DE  
PLÁTANO CULTIVADO EN COLOMBIA Y DE LA ESPECIE *Musa paradisiaca*  
PARA SU APLICACIÓN EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS**

**DAVID HUMBERTO VALENCIA ARIAS**



**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA  
BOGOTÁ D.C.**

**2019**

## **ACEPTACIÓN POR PARTE DE JURADOS**

**Jurado del trabajo:** Ph.D Nahury Yamile Castellanos

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA DE CÁSCARA DE  
PLÁTANO CULTIVADO EN COLOMBIA Y DE LA ESPECIE *Musa paradisiaca*  
PARA SU APLICACIÓN EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS**

**DAVID HUMBERTO VALENCIA ARIAS**

**Trabajo de grado como requisito parcial para optar el título de Químico**

**Directora del trabajo de grado**

**Ph.D PAULA ANDREA MENDEZ**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA  
CEAD JOSE ACEVEDO Y GOMEZ  
PROGRAMA DE QUIMICA  
BOGOTA D.C.**

**2019**

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA DE CÁSCARA DE  
PLÁTANO CULTIVADO EN COLOMBIA Y DE LA ESPECIE *Musa paradisiaca*  
PARA SU APLICACIÓN EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS**

**DAVID HUMBERTO VALENCIA ARIAS**

**“Prohibida la reproducción sin la autorización expresa del autor(a)”**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA  
BOGOTA D.C.**

**2019**

*Dedico este gran logro a Dios todo poderoso quien me ha dado la inspiración, la fuerza y la motivación de emprender este nuevo proyecto de conocimiento enfocado al beneficio de la humanidad y por acompañarme en cada paso dado desde el inicio hasta el final en este arduo camino de aprendizaje y por brindarme la capacidad de adquirir y comprender todos los temas propuestos en la formación profesional que con sacrificio y empeño se logró culminar la meta anhelada; A mi amada esposa y compañera Gloria Elena Mejía por alentarme en los momentos duros la cual con sus concejos de sabiduría me inspiraron a terminar mi proyecto de vida; a mis hijas: Mónica Alexandra Valencia y Estefanía Valencia, la cual son mis dos angelitas que mueven y encienden la chispa y el motor de mi vida para alcanzar todas las metas propuesta a lo largo de mi vida; a mis padres: Humberto Valencia y Esneda Arias, los cuales apoyaron la decisión de convertirme en un profesional brindándome sus sabios consejos motivándome a tomar las mejores decisiones desde mi infancia, adolescencia y madurez.*

## **Agradecimientos**

De antemano agradezco todo el apoyo y el conocimiento a la directora Paula Andrea Méndez y a todo el equipo educativo del programa de química de la universidad UNAD por brindarme la oportunidad de desarrollar el proyecto investigativo de extracción de pectinas a partir de las cáscaras de plátano de la especie *Musa paradisiaca*, utilizando las herramientas fundamentales requeridas para llevar a cabo la culminación de este proyecto. Agradezco la guía y orientación las cuales fueron oportunas y fundamentales en la dirección correcta para lograr los resultados obtenidos.

## Resumen

En los últimos años se ha incrementado el interés por el estudio de productos biodegradables, especialmente aquellos que se obtienen de los desechos de frutas y vegetales, ya que se ha encontrado beneficios importantes para su uso en aplicaciones farmacéuticas, en la industria alimenticia y a nivel medicinal. Los polímeros, en especial los polisacáridos, hacen parte de estos productos biodegradables; dentro de estos encontramos la pectina, la cual es un complejo heteropolisacárido constituido principalmente por unidades 1,4- $\alpha$ -D-ácido Galacturónico (AGal). A nivel industrial se obtiene principalmente de los cítricos y la manzana; sin embargo, en los últimos años ha sido objeto de investigación el uso de otras fuentes como las cáscaras de algunas frutas y verduras, dado la importancia de sus propiedades gelificante y de absorción para ser utilizado como estabilizante dentro de la industria de alimentos y la cosmetología. Este polímero pertenece a la familia de los oligosacáridos y polisacáridos de alto peso molecular; se encuentra principalmente en las paredes celulares de las plantas y en los tejidos mesenquimáticos y parenquimáticos, formando coloides ya que presenta propiedades de absorber grandes cantidades de agua. En el presente trabajo de investigación se presenta la extracción y caracterización de pectina a partir de la cáscara de plátano *Musa paradisíaca*, uno de los desechos que se generan en gran cantidad a nivel industrial en Colombia, ya que el mercado de producción, exportación y uso de este producto es bastante fuerte. Para la extracción se utilizó el método de hidrólisis ácida, donde se evaluó el efecto del pH y tipo de ácido (orgánico e inorgánico), en variables de respuesta como el porcentaje de rendimiento de extracción, solubilidad, grado de metoxilación, y viscosidad. Además, se realizó una caracterización química a través del análisis por espectroscopia infrarroja (FTIR) para determinar las bandas y señales características de la pectina. A su vez, se evaluó el efecto de las propiedades fisicoquímicas de la pectina en la obtención de nanopartículas, esto con el objetivo de explorar nuevos materiales para la aplicación en nanotecnología, una de las ciencias más estudiada en los últimos años para diversas áreas como la medicina, el desarrollo de energías limpias, farmacéutica, alimenticia, entre otras. Como resultados de esta investigación se obtuvo que la pectina extraída con ácido nítrico a pH 2 permitió obtener un mayor rendimiento de extracción; por su parte, el ácido cítrico a pH 3 permitió obtener un mayor %DM, y una

viscosidad dinámica mayor, sin embargo, independiente del pH y tipo de ácido, las pectinas obtenida en todos los medios ácidos de extracción son de alto metoxilo, es decir, mayor al 50%. Además, la pectina obtenida con ácido clorhídrico presenta un valor de viscosidad dinámica menor, lo cual podría ser indicativo que posiblemente presenta un peso molecular menor. Estas propiedades anteriormente mencionadas mostraron un efecto en la obtención de nanopartículas de pectina, donde la pectina con mayor viscosidad y grado de metoxilo permiten obtener sistemas coloidales homogéneos y estables a una concentración del polímero de pectina de 1mg/mL Cabe resaltar, que en este proyecto sólo se evaluó la formación de las nanopartículas a partir de la pectina, y que estos resultados son el fundamento para el desarrollo de otro proyecto en curso, donde se aplicarán en la encapsulación de una molécula hidrofóbica.

## Abstract

In recent years, the study of biodegradable products has been increased, especially those obtained from fruit and vegetable waste, due to the important benefits in pharmaceutical applications, food industry and medicinally. Polymers, especially polysaccharides, are part of these biodegradable products; within these we find pectin, which is a heteropolysaccharide complex consisting mainly of 1,4- $\alpha$ -D-Galacturonic acid (AGal) units. At an industrial level, it is obtained mainly from citrus fruits and apples; However, in recent years the use of other sources such as the peels of some fruits and vegetables has been investigated, due to the importance of its gelling and absorption properties to be used as stabilizers in the food industry and cosmetology. This polymer belongs to the family of high molecular weight oligosaccharides and polysaccharides; It is found mainly in the cell walls of plants and in mesenchymal and parenchymal tissues, forming colloids since it has properties of absorbing large amounts of water. In this work, we present the extraction and characterization of pectin from the banana peel *Musa paradisiaca*, one of the wastes that are generated in large quantities at industrial level in Colombia, since the market for production, export and use of this product is quite strong. For the extraction, the acid hydrolysis method was used, where the effect of the pH and type of acid (organic and inorganic) was evaluated in response variables, such as, percentage of extraction yield, solubility, degree of methoxylation, and viscosity. In addition, a chemical characterization was carried out through Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) to determine the bands and signals characteristic of pectin. In turn, we evaluated the effect of the physicochemical properties of pectin in obtaining nanocarriers with the aim of exploring new materials for application in nanotechnology, one of the most studied sciences in recent years for various areas such as medicine, the development of clean energies, pharmaceuticals applications, food, among others. As results of this work, it was obtained that the pectin extracted with nitric acid to pH 2 presented a higher extraction yield; on the other hand, the citric acid at pH 3 allowed to obtain a higher %DM and dynamic viscosity, however, independent of the pH and type of acid, the pectins obtained are of high methoxyl content, that is, greater than 50% extraction yield. Furthermore, the pectin obtained with hydrochloric acid has a lower dynamic viscosity value, which could be indicative that it possibly has a lower molecular weight. These previously mentioned properties showed an effect in the production of pectin nanoparticles, where the

pectin with higher viscosity and methoxyl grade allow to obtain homogeneous and stable colloidal systems at 1mg/mL of polymer pectin concentration. Worth nothing, in this work we only evaluated the nanoparticle formation from pectin, and these results are the base to the development of another research project in progress, where these nanoparticles will be applied in the encapsulation of hydrophobic molecule.

## **Producción académica**

### **Congreso**

Arias, David; Méndez, Paula A. “*Propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cáscaras de plátano (Musa paradisiaca), utilizando diferentes medios ácidos*”. Presentación en el II Congreso de Química del Caribe, Evento Internacional realizado en la Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia. 27 de febrero al 1 de marzo, 2019. Modalidad: Póster.

## Abreviaturas

AGal.....	Ácido Galacturónico.
ACl.....	Ácido Clorhídrico
AN.....	Ácido Nítrico
AC.....	Ácido Cítrico
AA.....	Ácido Acético
°C.....	Grados Celsius
-COOH.....	Grupos Carboxílicos.
C=O.....	Grupo Carbonilo de Ester.
C-H.....	Grupos Alquilo.
-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ....	Cadena de Enlace Etilo
DE.....	Grado de Esterificación
DM.....	Grado de Metoxilación
FTIR.....	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.
g.....	Gramos
KBr.....	Bromuro de Potasio
Ke.....	Grupos Carboxilos Esterificados
Kf .....	Grupos Carboxilos Libres
K/w.....	Kilovatios
LSD.....	Procedimiento de diferencia mínima significativa
M.....	Molaridad.
MeO.....	Grupos Metoxilos, o Grado de Esterificación
min.....	Minutos.
mL.....	Mililitros.
mV.....	Milivoltios
NaOH.....	Hidróxido de Sodio
NSL.....	Nanopartícula sólida lipídica.
-OH.....	Grupos Hidroxilos.

PDI.....	Polidispersidad
pH.....	Acidez o basicidad de una solución acuosa
PM.....	Peso Molecular
pKa.....	Fuerza de las moléculas en disociar el coeficiente
p/w.....	Potencia en Vatios
R1.....	Respuesta experimental 1
R2.....	Respuesta experimental 2
R3.....	Respuesta experimental 3
Sig.....	Significativa
T.....	Temperatura
t.....	Tiempo
TP.....	Titulación Potenciométrica
VP.....	Valoración Potenciométrica
v/v.....	Medida Volumen sobre Volumen
w/v.....	Concentración peso/volumen.

# Contenido

Resumen .....	7
Abstract.....	9
Producción académica .....	11
Abreviaturas.....	12
Lista de tablas .....	16
Lista de figuras y gráficas.....	17
1. INTRODUCCIÓN .....	19
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	21
3. JUSTIFICACIÓN.....	23
4. OBJETIVOS.....	24
General.....	24
Específicos .....	24
5. MARCO CONCEPTUAL Y TEÓRICO .....	25
5.2. Polisacáridos .....	25
5.2.1. Pectina .....	26
5.2.2. Propiedades fisicoquímicas de las pectinas .....	27
5.2.3. Fuentes de extracción de las pectinas .....	28
5.2.4. Métodos de extracción de las pectinas .....	30
5.3. Usos de los polisacáridos aniónicos a nivel industrial.....	32
5.4. Nanotransportadores .....	33
5.4.1. Nanotransportadores de pectina .....	35
6. METODOLOGÍA .....	36
6.1. Extracción de la pectina con diferentes medios ácidos.....	36
6.1.1. Materia prima .....	36
6.1.2. Extracción de la pectina.....	36
6.1.3. Caracterización de la pectina extraída .....	37
6.1.4. Diseño experimental .....	40
6.2. Preparación de las nanopartículas a partir de la pectina extraída .....	40
6.2.1. Obtención de las nanopartículas a partir de la pectina .....	41
6.2.2. Caracterización de las nanopartículas obtenidas .....	41
6.2.3. Diseño experimental .....	41

6.3.	Análisis estadístico .....	41
7.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	43
7.1.	Extracción de la pectina con diferentes medios ácidos.....	43
7.1.1.	Rendimiento de la materia prima (cáscara de plato Hartón) .....	43
7.1.2.	Rendimiento de la extracción .....	43
7.1.3.	Solubilidad.....	44
7.1.4.	Grado de metoxilación y porcentaje de grupos carboxilo .....	45
7.1.5.	Análisis FTIR .....	46
7.1.6.	Viscosidad dinámica y cinemática .....	54
7.2.	Preparación de las nanopartículas a partir de la pectina extraída .....	56
8.	CONCLUSIONES .....	61
9.	PERSPECTIVAS .....	62
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	63
11.	ANEXOS.....	68

## Lista de tablas

Tabla 1. Cuadro comparativo de diferentes medios de extracción de pectinas.....	30
Tabla 2. Ensayo de solubilidad con diferentes solventes.....	38
Tabla 3. Resultados de del grado de metoxilación y grupos carboxilo obtenido por titulación potenciométrica. ....	45
Tabla 4. Comparación de los resultados del %DM obtenidos por titulación potenciométrica (TP) y por FTIR. ....	54
Tabla 5. Resultados de viscosidad dinámica y cinemática, y densidad de la pectina obtenida.....	55
Tabla 6. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III ACI pH2.....	69
Tabla 7. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III ACI pH3.....	70
Tabla 8. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH3.....	70
Tabla 9. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AN pH2. ....	71
Tabla 10. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH2 .....	72
Tabla 11. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AN pH3. ....	72
Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH3 .....	73
Tabla 13. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AC pH2 .....	74
Tabla 14. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH2.....	75
Tabla 15. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AC pH3 .....	75
Tabla 16. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH3.....	76
Tabla 17. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AA pH2. ....	77
Tabla 18. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AA pH3. ....	77

## Lista de figuras y gráficas

Figura 1. Estructura básica de la pectina. Tomado de (Zegada, 2015) .....	27
Figura 2. a) Esquema representativo de la composición de la pared celular. Tomado de (Cosgrove, 2005), y b) Esquema representativo de la unión entre las microfibrillas y la celulosa. Tomado de (Cosgrove, 2005) .....	30
Figura 3. Clases de nanotransportadores: a) Nanotubo, b) Liposoma, c) Nanopartícula sólida lipídica (NSL), d) Nanopartícula polimérica: i) Nanoesfera, ii) Nanocápsula, e) Micela polimérica, f) Dendrímero, g) Nanopartícula funcionalizada. (Adaptado de (Awat, Ingh, Araf, & Araf, 2006). ....	34
Figura 4. Resultados del rendimiento de extracción de la pectina bajo condiciones de pH y tipo de ácido diferentes. ACI: ácido clorhídrico, AN: ácido nítrico, AC: ácido cítrico, AA: ácido cítrico.....	43
Figura 5. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido cítrico (AC) pH 2 y pH 3. ....	47
Figura 6. Deconvolución de las bandas 1639 y 1737 $\text{cm}^{-1}$ del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con AC a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AC a pH3. ....	48
Figura 7. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido acético pH 2 y pH 3... ..	49
Figura 8. Deconvolución de las bandas 1633 y 1747 $\text{cm}^{-1}$ del espectro de la pectina obtenida por hidrólisis con AA a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AA a pH3.....	50
Figura 9. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido clorhídrico (ACI) pH 2 y pH 3 .....	51
Figura 10. Deconvolución de las bandas 1632 y 1728 $\text{cm}^{-1}$ del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con HCl a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con HCl a pH3.....	52
Figura 11. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido nítrico (AN) pH 2 y pH 3.....	53
Figura 12. Deconvolución de las bandas 1626 y 1730 $\text{cm}^{-1}$ del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con AN a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AN a pH3.....	54
Figura 13. Viscosidad dinámica y cinemática en orden creciente. ....	56
Figura 14. Tamaño de partícula de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACI pH2, con concentración 1 y 2 mg/ml.....	58
Figura 15. Potencial zeta de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACI pH2, con concentración 1 y 2 mg/ml. ....	59
Figura 16. Pdl de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACI pH2, con concentración 1 y 2 mg/ml. ....	60
Figura 17. Fotografía de a) muestra de pectina precipitada con etanol y b) pectina después del proceso de filtrado. ....	68
Figura 18. Pectina después del proceso de filtrado. ....	68
Figura 19. Graficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza ACI pH 2 b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH2.....	69
Figura 20. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza ACI pH 3 b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH3.....	70
Figura 21. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AN pH 2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH2 .....	71
Figura 22. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AN pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH3.....	73

Figura 23. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AC pH2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH2. ....	74
Figura 24. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AC pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH3. ....	76
Figura 25. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AA pH2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AA pH2. ....	77
Figura 26. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AA pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AA pH3. ....	78

## 1. INTRODUCCIÓN

La extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano cultivado en Colombia y de la especie *Musa paradisiaca* es una alternativa para el aprovechamiento de los subproductos industriales del área alimenticia. Anualmente, en Colombia se producen gran cantidad de biomasa residual proveniente de cultivos de maíz, café, arroz, banano, plátano, entre otros. De acuerdo con cifras del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colombia produce una cantidad aproximada de 36 toneladas de residuos de plátano al año, de este desecho solo se reutiliza la tercera parte en alimentos para animales bovinos, y el resto de los desechos se dejan en descomposición natural agroforestal causando un impacto ambiental (Ministerio de Minas y Energía, 2006).

Se ha encontrado que las cáscaras de plátano son fuentes de pectinas, un polímero útil en la industria alimenticia (Ramos Valentina, 2016). De esta forma se identifica la necesidad de explorar la extracción de pectina para potencializar el producto a escala industrial, y fomentar el interés en la investigación avanzada de biotecnología para la obtención de este polímero a través del desarrollo de nuevas aplicaciones en la industria farmacéutica (Rural, 2000).

Actualmente, existen varias metodologías de extracción de pectina, dentro de las cuales se tiene el uso de microondas, ultrasonido y calentamiento convencional; todas ellas encaminadas a un proceso de hidrólisis ácida, variación en el tiempo de reacción y temperatura de la reacción (Bagherian, Zokae Ashtiani, Fouladitajar, & Mohtashamy, 2011). La metodología utilizada dentro de esta investigación es la extracción de pectinas por hidrólisis ácida mediante un calentamiento convencional, la cual se basa en el uso de ácidos fuertes y ácidos débiles, como el ácido clorhídrico, el ácido nítrico, el ácido cítrico y el ácido acético; sin variar la temperatura ni el tiempo de reacción. La mayoría de los estudios se enfocan en materias primas provenientes de la manzana y los cítricos (Kurita, Fujiwara, & Yamazaki, 2008). (HappiEmaga et al., 2008b); es por ello que esta investigación se enfoca en el uso de cáscara de plátano y el efecto de los medios ácidos en las propiedades finales de la pectina, tales como rendimiento de la extracción, grado de metoxilación, solubilidad y viscosidad; y además su potencial uso en la obtención de nanopartículas, las cuales son estructuras de gran interés en nanotecnología para el transporte de principios activos; (Rampino et al., 2016). Para ello, es importante considerar las propiedades del polímero como

peso molecular, grado de metoxilación y potencial zeta de la pectina en solución, dado que de ello depende la estabilidad de estos nanosistemas (Maciel, Yoshida, & Franco, 2015), (Syed Mohamad Al-Azi, Tan, & Wong, 2014).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Colombia no se tienen precedentes de producción industrial de pectinas, un polímero obtenido a partir de desechos orgánicos de manzana, cítricos, entre otros; lo cual crea una situación dependiente de la tecnología de países extranjeros que cumplen con la producción de esta materia prima, como Argentina, Francia, Dinamarca, México, Bélgica y Estados Unidos (Rural, 2000). Lo anterior evidencia la falta de desarrollo biotecnológico que en la actualidad se identifica en el país, convirtiéndolo en una oportunidad para innovar en el campo de aprovechamiento de residuos orgánicos. En la actualidad, este producto presenta un alto factor monetario y de demanda en el mercado industrial a pesar de que es obtenido de los desechos subvalorados como lo son las cáscaras de naranja, de mango, y otras fuentes. Se ha encontrado que las cáscaras de plátano son fuente de pectinas útiles en la industria alimentaria (Ramos Valentina, 2016). En Colombia se producen 36 toneladas anualmente de cáscara de plátano (Ministerio de Minas y Energía, 2006) de los cuales una tercera parte es destinada para la alimentación bovina, el restante es desechado como residuo orgánico generando un impacto de contaminación ambiental. Dentro de otros usos se encuentra su aprovechamiento en la obtención de harina de almidón (Melo, M.V., Torres, Y., Serna, J., Torres, L., 2015), pero aún no es aprovechado como materia prima para la extracción de pectina. De esta forma, se identifica la necesidad de explorar la extracción de pectina para potencializar el producto a escala industrial y fomentar el interés en la investigación avanzada de biotecnología para la obtención de este polímero a través del estudio de nuevas aplicaciones en áreas de medicina y farmacéutica (Rural, 2000).

A la fecha, los estudios para la extracción de pectina a partir de metodologías que implementan la hidrólisis ácida son de importancia para su uso en la industria alimenticia. Sin embargo, no se han desarrollado estudios para su potencial uso en la preparación de nanopartículas a partir de pectina obtenida de cáscara de plátano de la especie *Musa paradisiaca* cultivado en Colombia. Esto es comprensible, dado que su principal uso es como estabilizante y por ello la importancia de caracterizar las propiedades y su influencia en esta aplicación. No obstante, la pectina ha llamado la atención en la preparación de nanotransportadores y en nanotecnología para el transporte de principios activos y procesos coloidales (Rampino et al., 2016) y para ello las propiedades como peso molecular, grado de

metoxilación y potencial zeta de la pectina en solución, son de importancia para obtener nanosistemas estables (Maciel, Yoshida, & Franco, 2015), (Syed Mohamad Al-Azi, Tan, & Wong, 2014). De allí la relevancia de continuar el estudio de condiciones experimentales que permitan obtener pectinas con amplios rangos de peso molecular y grado de metoxilación, aprovechando los recursos presentes en nuestro país.

Este contexto nos lleva a formular la siguiente pregunta de investigación: ¿Las propiedades fisicoquímicas que presenta la pectina obtenida de cáscara de plátano cultivado en Colombia y de la variedad *Musa paradisiaca* permiten obtener nanopartículas estables y tienen un efecto sobre las propiedades de tamaño de partícula y carga superficial?

### 3. JUSTIFICACIÓN

La presente propuesta de investigación pretende resaltar la importancia del aprovechamiento de los residuos de la agroindustria para recuperar material disponible para diferentes aplicaciones en la industria alimenticia y farmacéutica, como es el caso de la cáscara de plátano de la especie *Musa paradisiaca*. El aprovechamiento de los residuos orgánicos es una manera de mitigar el índice de contaminación y promover a escala industrial su uso en diferentes áreas como la de alimentos, farmacéutica y cosmética. Actualmente, se han desarrollado metodologías para la extracción de pectinas de la manzana, cáscaras de naranja y maracuyá, entre otras fuentes; a través de la hidrólisis ácida con diferentes ácidos orgánicos e inorgánicos. Sin embargo, no es amplio el estudio con las cáscaras de plátano cultivado en Colombia y de la variedad *Musa paradisiaca*, Cabarcas et al. (2012) reportan rendimientos de pectina entre 7,53% y 23,06%, empleando cáscaras de plátano Hartón *Musa AABsimmonds*; y Arellanes M. A., Jaraba, Z. M., G. P., Mazzarri C. A., & Rincón M., (2011), reportan un porcentaje del 6.64%; el rendimiento de la reacción es bajo en lo reportado y las propiedades fisicoquímicas del polímero son variables y no han sido exploradas en la obtención de nanopartículas, por lo cual es importante continuar su estudio teniendo en cuenta las propiedades conferidas por el método de extracción y la fuente de obtención, que para este trabajo serán la hidrólisis ácida desarrollada por método de calentamiento convencional y como fuente de pectina las cáscaras de plátano de la especie mencionada..

Con miras a potencializar el desarrollo biotecnológico en Colombia y fomentar el aprendizaje institucional, se busca evaluar el efecto del pH y tipo de ácido durante la extracción de la pectina y la influencia en sus propiedades fisicoquímicas como solubilidad, grado de metoxilación y viscosidad con el propósito de ser utilizada como polímero en la obtención de nanopartículas, evaluando el efecto de las propiedades finales de las nanopartículas.

## 4. OBJETIVOS

### General

Establecer el efecto de diferentes medios ácidos en la extracción y caracterización de pectina obtenida a partir de la cáscara de plátano cultivado en Colombia y de la variedad *Musa paradisíaca* y en su potencial aplicación en la preparación de nanopartículas.

### Específicos

- Identificar el efecto del pH y del tipo de ácido sobre la eficiencia de la extracción y propiedades fisicoquímicas de la pectina obtenida como solubilidad, grado de metoxilación y viscosidad.
- Establecer las condiciones experimentales para la preparación de nanopartículas a partir de la pectina obtenida de la cáscara de plátano bajo diferentes condiciones ácidas.
- Analizar el efecto de las propiedades fisicoquímicas de la pectina obtenida en la formación de nanopartículas, evaluando su tamaño de partícula y carga superficial.

## 5. MARCO CONCEPTUAL Y TEÓRICO

### 5.1. Materia prima: plátano cultivado en Colombia de la especie *Musa paradisiaca*

El plátano es una planta herbácea monocotiledónea, de la familia *Musáceae*, originaria del sudeste asiático y traída a nuestro país por los españoles en el siglo XVI (Palencia, G., Gómez, R., Martín, J., 2006). Se considera como el cuarto cultivo más importante del mundo, dado que es un producto básico y de exportación, es una gran fuente de empleo e ingresos para los países del trópico y subtrópico. En Colombia se cultivan las variedades de plátano como: dominico-hartón, dominico, hartón, pelipita, morado, cachaco, popocho, pompo, maqueño, guineo y trucho (Carranza, C., Cruz, F., Cayón, D., Argüello, H., 2007)

### 5.2. Polisacáridos

Son polímeros que se forman principalmente por unidades de monosacáridos y que se unen de forma alternada por enlaces glucosídicos. Estas macromoléculas se encuentran principalmente en la estructura de la pared celular o espacio extracelular de las plantas terrestre o acuáticas (Sriamornsak, 2003). Los polisacáridos pertenecen a una amplia variedad de formación y estructura química regidos principalmente por carbohidratos. Son caracterizados mediante la estructura funcional dependiendo de la cantidad de átomos de carbono presentes; una de las características principales de los polisacáridos es que presenta grupos hidroxilos que pueden formar puentes de hidrógeno, confiriendo propiedades de hidratación, generando varios estados fisicoquímicos como capacidad espesante, gelificación, formación de reacciones de pardeamiento, fermentación, inhibición del crecimiento microbiano, y mejora la viscosidad de diferentes productos que hoy en día son utilizados dentro de la industria farmacéutica, alimenticia y cosmética (Sriamornsak, 2003). Los polisacáridos presentan grupos funcionales cargados positiva o negativamente que les confieren otras propiedades como mucoadhesividad y favorecen la interacción con sustratos biológicos. Los polisacáridos con grupos amino presentan carga positiva y se denominan catiónicos, como ejemplo de ello se tiene el quitosano, poliaminas, entre otros polímeros; y los que tienen grupos funcionales como ácidos carboxílicos, fosfato y sulfato, presentan carga negativa, y se denominan aniónicos, como ejemplo se tiene el ácido hialurónico, el alginato, las pectinas, entre otros (Pawar, Kamat, & Choudhary, 2015).

Los polisacáridos aniónicos tienen la propiedad de ser hidrogeles, es decir, las cadenas de los polímeros se hinchan en medio acuoso. Se caracterizan por presentar grupos carboxilatos como por ejemplo la pectina, el alginato y el hialuronan; grupos sulfato como heparin y carragenina. Al presentar estas características, los polisacáridos aniónicos son de interés para la industria farmacéutica como encapsuladores de principios activos (Zied Souguir, Elie About-Jaudet, Luc Picton, 2012).

### **5.2.1. Pectina**

El origen de la pectina se remonta al año 1790, cuando el químico francés Louis Nicolas Vauquelin observa por primera vez que en los zumos extraídos de frutas encuentra una sustancia soluble, espesa y diferente al zumo de extracción que realizaba en esa época. El Químico Francés Henri Braconnoc continuó con los estudios del zumo hasta caracterizar por primera vez la pectina en el año 1825, encontrando una característica gelificante al adicionarle ácido al medio de extracción del zumo de frutas; y le dio el nombre de pectina por su significado griego “pectore” el cual significa sólido coagulado. A nivel industrial, la comercialización de la pectina inició en el año 1908 en Alemania. Hacia el año 1916 Ehlich y Suarez reportaron dentro de sus investigaciones el aislamiento del ácido D-galacturónico como componente principal de la pectina (Saldarriaga, F. 2002).

La pectina es una mezcla compleja de polisacáridos que se obtiene de fuentes naturales como frutas cítricas y manzanas; sus propiedades se definen por la fuente de extracción, ya que la pared celular de las plantas no presenta las mismas características y contenido de este polímero, obteniéndose pectina con peso molecular y grado de metoxilación diferente. Son hidrocoloides que se encuentra en variados tipos de frutos y vegetales principalmente en las paredes celulares; y en la actualidad son extraídos de los residuos de las cáscaras de frutas utilizando diversas técnicas de extracción. La pectina en solución acuosa presenta características espesantes y gelificantes, es insoluble en alcohol y soluble en agua, de acuerdo con su grado de esterificación. La pectina es lineal, su composición varía; sin embargo, el principal componente son unidades de ácido D-galacturónico unidos por enlaces 1-4 glicosídicos. Estos ácidos pueden estar libres o formando enlaces metil-éster (esterificados). Además, se presentan tres estructuras que componen la pectina: la primera se denomina homogalacturanos, la segunda corresponde a xilogalacturanos y la tercera es la

ramnogalacturonanos; una explicación más acertada consiste en la unión de sus cadenas ramificadas y estructuradas de la siguiente forma (Sriamornsak, 2003):

- Homogalacturanos: unidos por  $\rightarrow 1-4\alpha\text{-D-AGal}$ .
- Xilogalacturanos: corresponde a la unión de xilosa y el ácido galacturónico.
- Ramnogalacturonanos: esta es la unión de ramnosa y ácido galacturónico.

La Figura 1 muestra la estructura sencilla de la pectina.

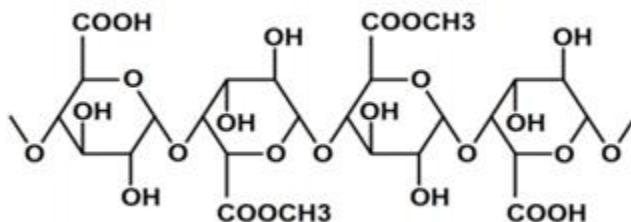


Figura 1. Estructura básica de la pectina. Tomado de (Zegada, 2015)

### 5.2.2. Propiedades fisicoquímicas de las pectinas

Dentro de las propiedades físicas relevantes que influyen en el uso comercial de las pectinas se tiene la solubilidad en medio acuoso, viscosidad, peso molecular, grado de metoxilación y capacidad de gelificación. Por su parte, dentro de las propiedades químicas se encuentran la capacidad de combinarse con otros polímeros a través de interacciones electrostáticas, la modificación de su estructura a través de grupos funcionales como hidroxilo (-OH) y carboxilo (-COOH), entre otras. Algunas propiedades tienen una relación directa, por ejemplo, el proceso de gelificación y el grado de metoxilación; el proceso se favorece por interacciones de tipo puente de hidrógeno entre el agua y grupos polares de la pectina como hidroxilo y carboxilo, permitiendo la formación de una estructura consistente. Sin embargo, cuando los grupos carboxilo están en forma desprotonada, es decir, como carboxilato (-COO-) las cadenas de pectina se repelen evitando la interacción y el proceso de gelificación. Por su parte, la viscosidad también depende del grado de metoxilación y el peso molecular, y se relaciona con la gelificación y solubilidad; por ejemplo, los factores que aumentan el proceso de gelificación disminuyen la solubilidad y aumentan la viscosidad (Silva, Benites, & Gomero, 2008).

Cuando se habla de alto metoxilo se hace referencia a un porcentaje mayor del 50% de acuerdo con el grado de esterificación, y son de bajo metoxilo si estas se encuentran por debajo del 50% correspondiendo a un grado de esterificación inferior. Las pectinas son solubles en agua, en formaldehído y dimetilformamidas, y son insolubles en solventes orgánicos y en soluciones que contengan detergentes cuaternarios, los cuales son empleados para la precipitación de la pectina después de haber pasado por un proceso de hidrólisis (Hua, Yang, Din, Chi, & Yang, 2018).






El aumento de temperatura determina marcadamente el grado de viscosidad de la pectina, otra variable de la cual depende la viscosidad de la pectina es el peso molecular y la longitud de la cadena dependiendo de la disolución y comportamiento de la gelificación a la cual fue sometida.

Definición del aspecto fisicoquímico individual de la pectina:

- Temperatura: por debajo de la temperatura crítica (95°C) la pectina con bajo metoxilo gelifica de forma casi instantánea, mientras que las pectinas de alto metoxilo dependerán del tiempo para gelificar y no es termorreversible.
- pH: la pectina al tener un pKa aproximado de 3.5 el cual corresponde a un porcentaje alto de grupos ácidos disociados, le confiere un comportamiento hidrofílico; por lo tanto, al bajar su pH aumenta la gelificación.
- Peso molecular: se puede determinar por distintos métodos y técnicas para la determinación de polímeros, por ejemplo, dispersión de luz en el UV-vis, centrifugación, cromatografía de permeación de gel y viscosimetría (Hua et al., 2018; Koh, Leong, & Noranizan, 2014; Vriesmann, Teófilo, & Lúcia de Oliveira Petkowicz, 2012; Zainudin, Wong, & Hamdan, 2018).
- El grado de metoxilación: se puede determinar por espectroscopía UV, titulación, adsorción de pigmentos, espectroscopía infrarroja (Oliveira et al., 2016), (Zainudin et al., 2018).

### **5.2.3. Fuentes de extracción de las pectinas**

Las pectinas son extraídas principalmente de las cáscaras de residuos de diferentes frutas, con alto contenido de cítrico y vegetal; se extraen del tejido suave del vegetal a través de hidrólisis y temperaturas altas, en las que se encuentran desde 75, 85 y 95°C; pero la mejor

opción para el primer tratamiento de la extracción de pectinas es llevarlas hasta el punto de ebullición en agua para obtener una inactivación enzimática y de esta forma lograr una eliminación de micro-organismos y la purificación del material. Este tipo de extracción se realiza por fracción en diferentes disoluciones para determinar la concentración y solubilidad de la pectina (Pagliaro et al., 2016). Una característica importante para tener en cuenta sobre la materia prima para la extracción de pectinas es que la mayor cantidad se obtiene de los residuos de las cáscaras de frutos, por ende, el costo de obtención es bajo. En Colombia se genera gran cantidad de desechos de procesadoras alimenticias, y estos son utilizados para diferentes fines como la alimentación porcina y bovina, también son utilizados como abono agroforestal. Sin embargo, este tratamiento no abastece la cantidad de desechos generados al medio ambiente creando un alto nivel de contaminación ambiental, por lo cual el estudio de la extracción de pectina de estas fuentes es una alternativa para mitigar esta problemática ambiental. En la presente propuesta de investigación la fuente principal de la extracción de pectina se realiza a partir de la cáscara de plátano *Musa paradisíaca*, ya que allí se encuentra gran cantidad de fibras que corresponden a la formación estructural de la cáscara. Cuando se habla de la pared celular, se debe reconocer que está conformada principalmente de polisacáridos complejos y una pequeña cantidad de proteínas. Como se observa en la Figura 2, a), la pared celular está compuesta por varios dominios Ramnogalaturonan I () , Ramnogalaturonan II () , homogalacturonan () , xylogalacturonan () , y en la figura 2, b) se representa como la pectina () puede estar unida a la celulosa por enlaces covalentes o a través de interacciones electrostáticas con iones calcio. (Vasquez, Ruesga, Daddosio, Páez, & Marín, 2008), (Cosgrove, 2005).

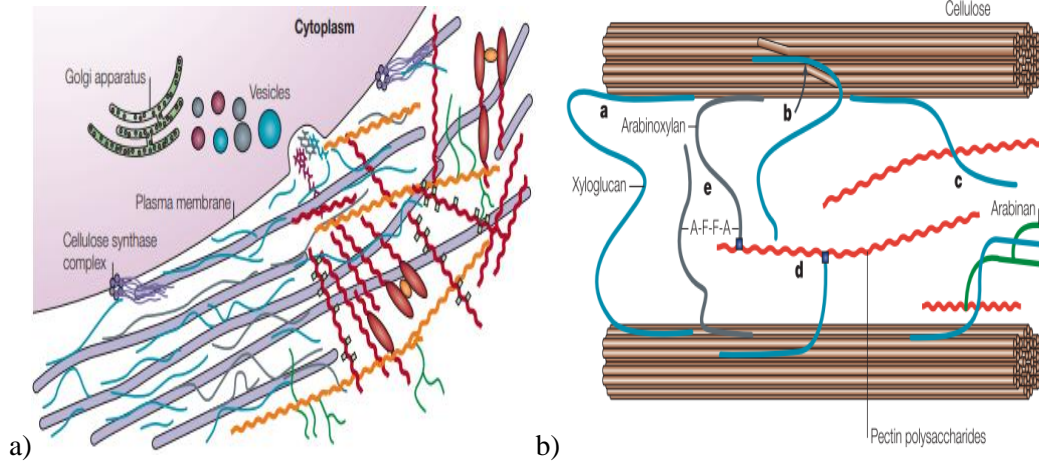


Figura 2. a) Esquema representativo de la composición de la pared celular. Tomado de (Cosgrove, 2005), y b) Esquema representativo de la unión entre las microfibrillas y la celulosa. Tomado de (Cosgrove, 2005)

#### 5.2.4. Métodos de extracción de las pectinas

La pectina se extrae principalmente por tratamiento con un ácido mineral a temperaturas cercanas a la ebullición del agua. Aravantinos-Zafirios, G., & Oreopoulou, V. (1992) y Braddock et al. (1976) proponen extracciones de pectina con ácido clorhídrico variando la temperatura entre 85 a 90°C con un pH de 1,6 a 2,0 y un tiempo aproximado de 30 a 60 minutos; este tipo de tratamiento también se puede realizar con ácido sulfúrico o ácido nítrico para lograr una hidrólisis ácida. El proceso es básicamente igual para todos los tipos de extracción, -se incluye inactivación enzimática, decantación, hidrólisis ácida y precipitación de la pectina. La Tabla 1- resume algunos estudios que se han implementado para extraer pectina de diferentes fuentes y bajo diferentes condiciones experimentales.

Tabla 1. Cuadro comparativo de diferentes medios de extracción de pectinas.

Materia prima	Método	Condiciones	Resultados	Referencia
Albedo de Toronja	Convencional	T=90 °C, t=90 min, pH=1.5, cantidad 1 g/30 mL	Rendimiento 19.16%, DE=75.6%, Viscosidad=3.98dL/g	Bagherian, Zokaee Ashtiani,
	Microondas	PW=0.9Kw, t=6 min, pH=1.5, cantidad 1g/30mL	Rendimiento 27.81%, DE=79.35%, Viscosidad=2.61dL/g	Fouladitajar, & Mohtashamy, 2011

	Ultrasonido	Sonicación intermitente, T=70 °C, t=25 min	Rendimiento 17.92%, DE=75.12%, Viscosidad=3.23dL/g	
<b>Cáscara de plátano Musa saba</b>	Convencional	HCl 0.5N pH=1.5, T=90°C, t=4 hrs	Rendimiento 17.05% DE=75.03%	Castillo-Israel et al., 2015
<b>Cáscara de plátano Musa acuminata</b>	Convencional	Ácido cítrico 1:20 (w/v) pH=2.0, T=87°C, t=160 minutos	Rendimiento 14.23 % DE=51.79 %	Oliveira et al., 2016
<b>Cáscara verde de pistacho</b>	Convencional	Ácido cítrico 10:50 (w/v) pH=0.5, T=90°C, t=30 minutos	Rendimiento 22.1 % DE=65 % Viscosidad=0.07 L/g	Chaharbaghi, Khodaiyan, & Hosseini, 2017
<b>Cáscara de plátano Musa paradisíaca triploid</b>	Convencional	HCl 1:30 (w/v), T=98°C, t=60 minutos	Rendimiento 20 %	Siti Nor Azlina Abd Rashida, Surhanis Mohd Sukrib, 2016
<b>Cáscara de plátano (Musa AAB subgrupo plátano, clon Hartón)</b>	Convencional	HCl pH=2.0, T=85°C, t=60 minutos No reporta la concentración de ácido.	Rendimiento 20.68 % DE=1.47 %	Vasquez, Ruesga, Daddosio, Páez, & Marín, 2008

Dentro de las primeras metodologías reportadas, se encuentra la de los autores R. J. Braddock, (1976); Rouse, Crandall, & Alfred, (1976); donde reportan un método de extracción de pectina con ácido nítrico de la corteza de cáscara de limón a un pH de 1,8 y una temperatura de 80°C durante 60 minutos, este estudio afirma que a menor pH existe una mejor extracción de pectina. Por su parte, los autores Aravantinos-Zafiriris & Oreopoulou, (1992) también reportan una óptima extracción empleando un pH de 1,5 y 100°C para la misma materia prima reportada en el trabajo anterior.

Dentro de las investigaciones realizadas por Cabarcas, E., Guerra, A., Henao, C., Acevedo M., (2012); se reporta una extracción de pectina a partir de las cáscaras de plátano trabajando a un pH de 1,5 y una temperatura de 80°C, obteniéndose un rendimiento máximo de 23,06% en base seca; esto indica que la temperatura y el pH son variables que aportan un efecto significativo sobre el porcentaje de rendimiento. Otra variable dependiente de las condiciones de extracción es el contenido de metoxilo, el cual influye en la propiedad de gelificación dado que las interacciones intermoleculares son dependientes del rango de pH en el que se encuentre la pectina (Oakenfull, 1991).

Como lo demuestran estos estudios, la fuente de extracción y las condiciones de reacción pueden afectar los resultados; además, hasta el momento no se conocen trabajos completos acerca de la extracción de pectina de plátano de la especie *Musa paradisiaca*, donde se reporte el grado de esterificación, contenido de ácido galacturónico y peso molecular; con potencial uso en la preparación de nanotransportadores por interacción electrostática con polimeros como quitosano.

### **5.3. Usos de los polisacáridos aniónicos a nivel industrial**

El uso de los polisacáridos en la industria se puede clasificar por áreas, ya que involucran la aplicación de los polímeros dentro de la industria de alimentos, tratamiento de aguas, cosmética, productos dietéticos, agricultura, biomedicina, química analítica, farmacéutica, entre otras. Las pectinas una mezcla compleja de polisacáridos se han utilizado en la industria farmacéutica como agentes antidiarreicos y desintoxicantes debido a su propiedad adsorbente y secuestrante de la macromolécula péptica, permitiendo una inhibición de toxina (Sriamornsak, 2003).

Otros estudios afirman que la pectina reduce la intolerancia a la glucosa en personas diabéticas y puede bajar el colesterol sanguíneo, también aporta mejoras en la inhibición potencial del cáncer y evita la proliferación de éste. Actualmente, se desarrollan estudios enfocados al uso potencial de la inhibición del cáncer de próstata (Zhang, Xu, & Zhang, 2015).

Las pectinas, por sus propiedades como suavizantes y estabilizantes son utilizadas en la industria cosmética en productos como aceites, pastas dentales, cremas, ungüentos, desodorantes, tónicos capilares, etc. En la industria de alimentos se utilizan en fibras dietéticas, debido a la estructura peptídica y su capacidad de formar geles acuosos, modificando la textura de compotas, jaleas, salsas, mermeladas, mayonesas etc; en las bebidas dietéticas se utiliza por su bajo contenido en carbohidratos, además pueden incrementar la viscosidad (Sriamornsak, 2003).

También se utiliza para recubrir principios activos como excipiente y protegerlos de la mucosa gástrica (Liu, Fishman, & Hicks, 2007; Neufeld & Bianco-Peled, 2017). Sin embargo, su uso como macromolécula para el transporte de principios activos nanoencapsulados aún presenta desventajas, ya que son inestables en el tiempo y a ciertos

cambios de pH, además no se degradan por las bacterias del colón y no es digestivo por las enzimas gástricas e intestinales (Neufeld & Bianco-Peled, 2017), lo cual limita su uso en aplicaciones farmacéuticas y en nanomedicina, siendo aún objeto de estudio para dichas aplicaciones.

#### **5.4. Nanotransportadores**

Los nanotransportadores son dispositivos biocompatibles y biodegradables que permiten el transporte de principios activos actuando como reservorios que protegen y liberan de forma controlada las moléculas. Los nanotransportadores se clasifican de acuerdo con el tipo de material utilizado para la obtención del sistema coloidal, es decir, pueden ser: poliméricos, magnéticos, inorgánicos, cerámicos y metálicos. También se clasifican de acuerdo con su morfología en nanopartículas, puntos cuánticos, liposomas, micelas, nanotubos, dendrímeros, entre otros, como se indica en la Figura 3. Los nanotransportadores pueden transportar los principios activos de forma física, es decir, a través de la encapsulación en el interior de la matriz utilizada o de forma química a través de la unión química con la matriz (Mishra, Patel, & Tiwari, 2010). Las nanopartículas poliméricas son uno de los sistemas más estudiados en los últimos años (Burapapadh, Takeuchi, & Sriamornsak, 2016), dadas las propiedades de los polímeros como son: biocompatibilidad, degradabilidad, mucoadhesividad, mayor área de exposición e interacción debido a su tamaño, presentan en su estructura química grupos funcionales que permiten modificaciones químicas para vectorizar los sistemas y hacerlos más efectivos en el sitio de acción; y muchos de ellos son de fuentes naturales como la celulosa, pectina, quitosano, poli-ácido hialurónico, poli-ácido láctico, alginato, entre otros. Dentro de los métodos de preparación de nanopartículas poliméricas se tiene: complejación o interacción electrostática, el cual se caracteriza por el uso de polianiones y policationes; por auto-ensamble o interacciones hidrofóbicas, el cual se caracteriza por el uso de polímeros anfifílicos en medio acuoso; nanoprecipitación, se utilizan polímeros hidrofóbicos que interactúan con una fase miscible de un solvente orgánico y agua, y por difusión rápida del solvente se forma la nanopartícula. Emulsión por evaporación de solvente, se utilizan polímeros de naturaleza hidrofílica, hidrofóbica o anfifílicos, que tienen contacto con solventes miscibles, orgánico/agua, y por sonicación y posterior evaporación del solvente orgánico se forma la nanopartícula (Giodini et al., 2016).

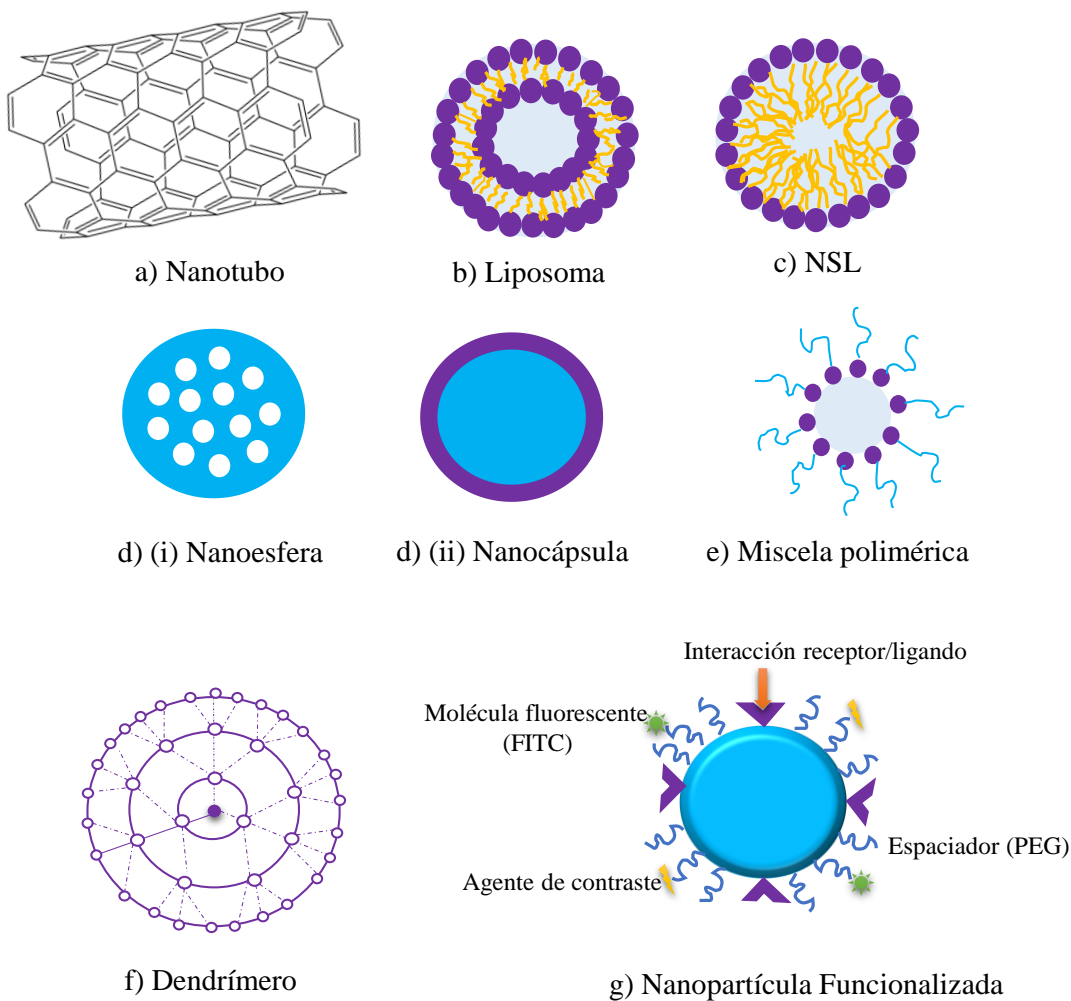


Figura 3. Clases de nanotransportadores: a) Nanotubo, b) Liposoma, c) Nanopartícula sólida lipídica (NSL), d) Nanopartícula polimérica: i) Nanoesfera, ii) Nanocápsula, e) Micela polimérica, f) Dendrímico, g) Nanopartícula funcionalizada. (Adaptado de (Awat, Ingh, Araf, & Araf, 2006).

Dada la importancia de la nanotecnología y su aplicación en nanomedicina, es de interés el estudio de nuevos sistemas coloidales poliméricos que permitan el transporte de principios activos permitiendo disminuir los efectos secundarios de algunos de ellos y la dosis frecuente de estos; además, desarrollar sistemas inteligentes que lleguen al sitio de acción deseado de forma segura sin alterar la composición de la molécula que se transporta. La pectina, es uno de los materiales estudiados en los últimos años para tal fin, encontrándose que las

propiedades como peso molecular, grado de metoxilación, viscosidad y solubilidad, son de importancia para el diseño de sistemas de liberación controlada (Liu et al., 2007).

#### **5.4.1. Nanotransportadores de pectina**

Dadas las características de mucoadhesivo y gelificante de la pectina, este material ha sido utilizado para el diseño de hidrogeles y nanopartículas poliméricas para la liberación de principios activos a nivel nasal, tópico y óptico; sin embargo, tiene como limitante que las interacciones intermoleculares no son lo suficientemente fuertes para dar estabilidad a los sistemas coloidales, siendo necesario el uso de otros polímeros con cargas opuestas, como el quitosano (Neufeld & Bianco-Peled, 2017). Actualmente, la mayoría de los estudios de nanopartículas poliméricas que se reportan con pectina, se basan en la complejación con quitosano, un polímero catiónico que permite la interacción con las cargas negativas de la pectina formando un complejo por interacción electrostática, una interacción más fuerte que permite dar estabilidad a los sistemas coloidales (Ahlin Grabnar & Kristl, 2010; Maciel et al., 2015; Neufeld & Bianco-Peled, 2017; Rampino et al., 2016). Sin embargo, la pectina utilizada para la preparación de nanopartículas es de origen comercial, es decir, pectina de cítricos con bajo y alto metoxilo y manzana con alto metoxilo; pero a la fecha no se reporta el uso de pectina proveniente de cáscara de plátano de la especie *Musa paradisíaca*.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. Extracción de la pectina con diferentes medios ácidos

#### 6.1.1. Materia prima

Para este experimento se adquirió un racimo de plátanos verdes de tipo *Hartón Musa paradisiaca* del cual se obtuvo un total de 4.500g de cáscara de plátano verde biche, el cual se utilizó como materia prima para la extracción de pectinas después de un proceso previo de lavado e inactivación enzimática.

#### 6.1.2. Extracción de la pectina

**Preparación de la materia prima:** para llevar a cabo la extracción de la pectina, se preparó la materia prima, en este caso las cáscaras de plátano, para su posterior proceso de hidrólisis. Para ello, las cáscaras de plátano se cortaron en pedazos y se inactivó las enzimas pécticas (Vasquez et al., 2008) a través del calentamiento de lotes de muestra de 300g/L litro de agua destilada tipo 3, a 95 °C durante 15 minutos. Las cáscaras fueron filtradas por medio de una tela de liencillo y se lavó con abundante agua. Después de obtener las cáscaras con este pretratamiento inicial se dispersaron en moldes de aluminio y se secaron en Horno Marca Haus a 60 °C hasta obtener peso constante, después de secar las cáscaras fueron trituradas utilizando un Picatodo marca Oster hasta obtener un polvo granulado fino uniforme.

**Hidrólisis ácida de las cáscaras de plátano pulverizadas:** para ello, se utilizó la metodología de Vasquez et al., (2008) y El-Nawawi & Heikal, (1995). Primero se prepararon las diferentes soluciones ácidas a pH 2 y 3 utilizando un potenciómetro marca HANNA pH 210 para la medida del pH. La concentración de los ácidos orgánicos fue: ácido cítrico marca Scharlau para pH 2 y pH 3 aproximadamente una concentración de 0,6 M; para ácido acético a pH 2 y pH 3 fue de 0,02 M. En el caso de los ácidos inorgánicos: ácido nítrico marca Scharlau a pH 2 y pH 3 fue de 0,01 M. Para el ácido clorhídrico a pH 2 se utilizó una concentración 0,02 M, y a pH 3 0,01 M. La materia prima de las cáscaras de plátano pulverizada se adicionó a cada una de las soluciones ácidas preparadas anteriormente, ácido clorhídrico (ACl), ácido nítrico (AN), ácido acético (AA) y ácido cítrico (AC) a pH 2 y pH

3, en una concentración final de mezcla de 0,05g/mL. Se calentó la mezcla durante 60 minutos a 85°C con agitación magnética constante, durante el proceso no se observa pardeamiento de la muestra; sin embargo, la muestra tiene dicha coloración por el proceso de secado de la cáscara de plátano. Pasado el tiempo de la hidrólisis ácida, se filtró la mezcla con tela de liencillo, se dejó enfriar la fracción líquida y se centrifugó a 3000 revoluciones por minuto en una centrifuga de marca Thermo Scientific CL 10. El procedimiento de centrifugado se realizó por duplicado con cada una de las muestras de extracción para obtener un mayor rendimiento de recolección del sobrenadante. El total de sobrenadante obtenido se mezcló con etanol al 96% marca Merck en un Baker de 1000 mL, en una proporción 1:2 (sobrenadante: etanol); se tapó con papel aluminio para evitar la evaporación del etanol y se sometió a agitación constante hasta precipitar la pectina, luego se dejó en reposo durante 30 minutos en baño de hielo para agilizar el precipitado. La pectina se separó mediante filtrado con tela de liencillo y se lavó con dos porciones de etanol al 80% v/v. La pectina se esparció en cajas de Petri y se secó en estufa a 50°C hasta obtener peso constante. La pectina obtenida se trituró hasta obtener el polvo homogéneo y se almacenó en un lugar libre de humedad.

### 6.1.3. Caracterización de la pectina extraída

- **Rendimiento de la extracción**

Para calcular el porcentaje de rendimiento extracción, se tuvo en cuenta el peso inicial de la materia prima empleada, en este caso 20 g, valor correspondiente al valor teórico. De acuerdo con la metodología de Mendoza Vargas, Jiménez Forero, & Ramírez Niño, (2018), se utilizó la siguiente ecuación para calcular el rendimiento porcentual experimental:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{rendimiento inicial}}{\text{rendimiento teórico}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

Rendimiento inicial corresponde a la pectina extraída a peso constante en gramos (g).

Rendimiento teórico corresponde a la cantidad de materia prima que se pesó inicialmente en gramos (g).

Nota: este procedimiento se realizó en los cuatro medios ácidos utilizados para la extracción por hidrólisis y a pH 2 y pH 3.

- **Solubilidad**

Dado que la naturaleza polar o apolar de la pectina puede variar por su grado de esterificación, es importante determinar la solubilidad de la pectina en diferentes solventes para desarrollar estudios posteriores como el grado de esterificación y la viscosidad, análisis en los cuales es importante el solvente que se utiliza para la solubilidad. La solubilidad se determinó utilizando como solventes metanol, etanol y acetona. Se pesaron 5mg de muestra de pectina obtenida en cada hidrólisis y se mezcló con diferentes solventes como se indica en la Tabla 2; cada muestra se agitó durante 5 horas con una temperatura de 45 °C.

Tabla 2. Ensayo de solubilidad con diferentes solventes.

Concentración de pectina	Solvente	Relación solvente: agua destilada
0,6 mg/mL	Metanol	1:3
	Etanol 95%	1:1.7
	Etanol 95%	1:7
	Etanol 50%	1:1.7
	Acetona	1:7

Se trabajó en mayor medida con las relaciones de etanol: agua destilada, dado que presentaba mejor solubilidad que en metanol y acetona.

- **Grado de metoxilación y porcentaje de grupos carboxilo**

El grado de metoxilación (%DM) de la pectina se determinó a través de una titulación con NaOH 0.1 M, de acuerdo con la metodología de Nazaruddin, R., Noor Baiti, A. A., Foo, S. C., Tan, Y. N. and Ayob, (2013) y Grassino et al., (2016). Para ello, 0.2 g de pectina se mezclaron con 25 mL de una solución de etanol: agua en relación 1:7. La mezcla se agitó hasta obtener una solución homogénea de pectina, y se tituló con NaOH 0.1 M, utilizando fenolftaleína como indicador hasta observar cambio de color a rosa pálido, esto con el propósito de titular los grupos ácidos carboxílicos presentes en la pectina. Luego, 10 mL de NaOH 0.1 M se adicionaron a la solución inicial y se agitó durante 30 min; con el propósito de llevar a cabo un proceso de desesterificación por hidrólisis básica. Pasado este tiempo, se adicionaron 10 mL de HCl 0.1 M para neutralizar el NaOH. Finalmente, se agregó 2 gotas de fenolftaleína y la solución se titula con NaOH 0.1 M hasta observar cambio de color a rosa pálido; de esta manera se conoce el número de metoxilos presentes. De acuerdo con las

ecuaciones 2-4 se calculó el porcentaje de los grupos metoxi (MeO) o grado de metoxilación, y el porcentaje de grupos carboxilo (-COOH), con la ecuación 5.

$$\% DM = \frac{\text{Volumen final de NaOH (mL)}}{\text{Volumen inicial NaOH (mL)} + \text{Volumen final NaOH (mL)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$Kf = \frac{N_{NaOH} * V_{iNaOH} * 0.045}{\text{Peso pectina (g)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$Ke = \frac{N_{NaOH} * V_{fNaOH} * 0.045}{\text{Peso pectina (g)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$\text{Número total de } -COOH = Kf + Ke \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde Kf se refiere al volumen inicial de NaOH (grupos -COOH libres) y Ke se refiere al volumen final de NaOH, después de la agitación de 2 horas donde se da el proceso de desesterificación (grupos -COOH esterificados). El valor de 0,045 es el peso molecular del grupo carboxilo dividido en 1000 (Bochek, Zabivalova, & Petropavlovskii, 2001).

- **Espectroscopia infrarroja con transformada de fourier (FTIR)**

El análisis infrarrojo se llevó a cabo para evidenciar la obtención de la pectina a través del reconocimiento de las bandas de absorción características de la molécula, y determinar de forma cualitativa y cuantitativa su grado de metoxilación. Las muestras se prepararon dispersando el polímero en Bromuro de Potasio (KBr) y se formó una pastilla en una relación (2:100, muestra: KBr); para eliminar posible humedad de las muestras, las pastillas se secaron a vacío durante 24 horas. Los espectros se tomaron con 16 barridos en un FTIR Perkin Elmer spectrum one.

Para determinar el grado de metoxilación (%DM) por FTIR se realizó la deconvolución de la banda cercana a  $1740 \text{ cm}^{-1}$ , la cual es alusiva al carbonilo de éster (-COOCH<sub>3</sub>), y  $1630 \text{ cm}^{-1}$  del carbonilo del ácido (-COOH); para cada espectro infrarrojo; y se determinó el área bajo la curva con ayuda del programa OriginPro 8.5. Finalmente, de acuerdo con la metodología de Zainudin et al., (2018) y la ecuación 7 se calculó el %DM y a través de la metodología de Sato et al., (2011) y con la ecuación 8 se determinó el %DE para comparar los resultados obtenidos.

$$R_a = \frac{A_{-COOCH_3}}{A_{-COOCH_3} + A_{-COOH}} = \frac{A_{1740}}{A_{1740} + A_{1630}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

$$\%DM = 126,3Ra + 2,493 \quad (\text{Ecuación 7})$$

$$\%DE = 87,609Ra + 25,768 \quad (\text{Ecuación 8})$$

Donde  $R_a$  es la relación del área calculada para la banda en  $1740 \text{ cm}^{-1}$ , sobre la suma de las áreas de las bandas en  $1740$  y  $1630 \text{ cm}^{-1}$ . La expresión de la ecuación 7 es el resultado de un ajuste lineal de una curva de calibración creada con muestras de pectina con %DE conocido y peso molecular bajo, donde se construye con la relación de áreas y %DM creado para algunas pectinas provenientes de naranja (Zainudin et al., 2018); mientras que el ajuste de la ecuación 8, se construyó con pectinas comerciales de %DE 26, 59 y 94%, y peso molecular medio (Sato et al., 2011).

- **Viscosidad dinámica y cinemática**

Para determinar la viscosidad de las muestras de pectina extraída, se prepararon soluciones de concentración conocida 300-600 mg/mL en una solución de etanol en relación 1:7 etanol:agua; y se midieron las muestras a temperatura ambiente en un viscosímetro Anton Paar Stabinger Viscometer SVM 3000.

#### **6.1.4. Diseño experimental**

Se utilizó un diseño factorial experimental  $2^2$ , donde los factores fueron el pH (2 y 3) y el tipo de ácido (orgánico e inorgánico); dentro de los ácidos orgánicos utilizados se tiene el ácido acético (AA) y el ácido cítrico (AC), y para los ácidos inorgánicos se utilizaron el ácido clorhídrico (ACI) y el ácido nítrico (AN). Como variable respuesta se espera ver el efecto en el rendimiento de extracción de la pectina y grado de metoxilación; esta última propiedad está directamente relacionada con la solubilidad y viscosidad.

## **6.2. Preparación de las nanopartículas a partir de la pectina extraída**

Para preparar las nanopartículas se seleccionó dos muestras de las pectinas obtenidas de esta investigación, una con mayor grado de metoxilación y otra con menor grado de metoxilación.

#### **6.2.1. Obtención de las nanopartículas a partir de la pectina:**

Se prepararon disoluciones de la pectina en dos concentraciones (1 y 2 mg/mL), utilizando como solvente agua tipo II, y como método de preparación sonicación con una sonda de ultrasonido SONICS VCX130 vibra-cell, con una función de pulso on 2 s y off 2 s, con 90% de amplitud, 130 kW, durante 5 minutos.

#### **6.2.2. Caracterización de las nanopartículas obtenidas**

- **Tamaño de partícula**

Los sistemas coloidales se caracterizaron por dispersión de luz dinámica para establecer el tamaño de partícula, la distribución del tamaño de partícula y el índice de polidispersidad (PdI), en un equipo HORIBA LB 550, en medio acuoso y a temperatura ambiente.

- **Carga superficial**

Los sistemas acuosos obtenidos se midieron un equipo Malver zetasizer (nano series) para establecer la carga superficial a través del potencial zeta.

#### **6.2.3. Diseño experimental**

Se utilizó un diseño factorial experimental  $2^3$ , donde los factores fueron la concentración del polímero o pectina (1 y 2 mg/mL), el grado de esterificación o metoxilo (alto por encima del 50% y bajo por debajo del 50%) y el tipo de ácido (orgánico-AC e inorgánico-ACI); se seleccionó la pectina con mayor grado de metoxilación y una intermedia. Como variable respuesta se espera ver el efecto en el tamaño de partícula, distribución de tamaño y carga superficial, lo cual está directamente relacionado con la estabilidad de las nanopartículas; esperándose tamaños menores a 300 nm, distribuciones de tamaño estrechas, es decir, PdI menor a 0,3.

### **6.3. Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del análisis de varianza simple (ANOVA) de acuerdo al número de datos o el comportamiento de los mismos. Para ello se

utilizó el software Minitab 18, con un criterio de decisión de un 95% de confianza. Se establecieron diferencias estadísticamente significativas a un valor de  $p < 0.05$ . Este análisis se realizó para las muestras con  $n=3$ , las cuales fueron el grado de metoxilación y porcentaje de grupos carboxilo, y la preparación de las nanopartículas.

## 7. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 7.1. Extracción de la pectina con diferentes medios ácidos

#### 7.1.1. Rendimiento de la materia prima (cáscara de plato Hartón)

A partir de la cantidad de plátano hartón *Musa paradisiaco* procesado se obtuvo aproximadamente 4500 g de cáscara sin ningún tratamiento inicial. Después de pasar por el proceso de inactivación enzimática y secado se obtuvo una cantidad de 900g de materia prima seca y pulverizada, correspondiente al 20% de la materia prima inicial.

#### 7.1.2. Rendimiento de la extracción

Para el porcentaje de rendimiento experimental de la extracción se tuvo en cuenta la cantidad inicial de material prima utilizada (20 g) y los gramos obtenidos de pectina. Y se realizó el cálculo de acuerdo con la metodología de Seggiani et al. (2009).

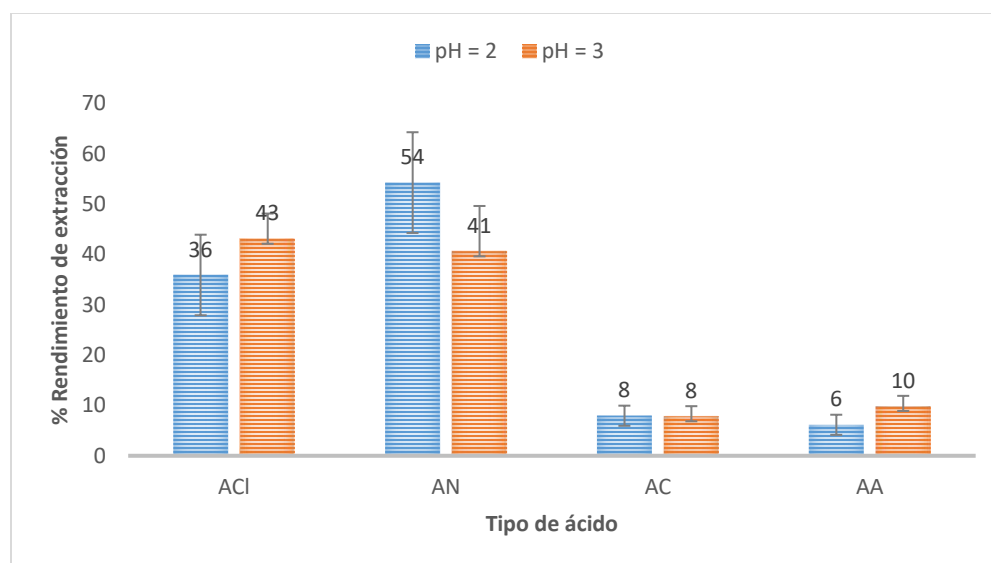


Figura 4. Resultados del rendimiento de extracción de la pectina bajo condiciones de pH y tipo de ácido diferentes. ACI: ácido clorhídrico, AN: ácido nítrico, AC: ácido cítrico, AA: ácido acético.

De acuerdo con los resultados obtenidos, Figura 4, se observa que los ácidos inorgánicos permiten obtener un rendimiento de extracción mayor, encontrándose que el AN a pH 3 favorece la obtención de un mayor rendimiento (54%). Por su parte, el AA a pH 2 presenta el menor porcentaje de rendimiento de extracción (6%). Este efecto se debe a que las

condiciones ácidas más fuertes permiten una mayor disrupción de la pared celular de la materia prima vegetal, lo cual conduce a la pectina a ser liberada de la estructura de pared y ser disuelta en el medio ácido de la solución (Ma et al., 2013). Por su parte, el efecto del pH evidencia un comportamiento diferente para cada ácido, es decir, para el ACI el pH 3 favorece una mayor extracción, mientras que para el AN el pH 3 favorece un rendimiento menor; esto se debe posiblemente a la diferencia en la concentración molar utilizada en las diferentes soluciones ácidas, la cual no es igual en algunos casos, por ejemplo la concentración de solución en ambos ácidos inorgánicos fue de 0,01 M, mientras que las de los ácidos orgánicos fue de 0,6 M y 0,02 M para el AC y el AA, respectivamente. Ahora bien, si comparamos con otros estudios desarrollados con mango, manzana, naranja (Siddiqui et al., 2016) y las investigaciones realizadas por Cabarcas, E., Guerra, A., Henao, C., Acevedo M., (2012) de cascara de plátano de la especie *Musa paradisiaca* y remolacha (Ma et al., 2013); encontramos coherencias con los resultados de estas investigaciones, es decir, los ácidos inorgánicos favorecen un mayor rendimiento de extracción.

### **7.1.3. Solubilidad**

Los resultados de solubilidad evidenciaron una mayor de homogeneidad de la mezcla en el solvente compuesto de etanol al 95%: agua en relación 1:7, después de someterlos a una temperatura de 45 °C durante 5 horas y una agitación constante. Esto se debe posiblemente a que las interacciones como puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del etanol y de las cadenas de pectina favorecen la solubilidad, por su parte la cadena de etilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) del etanol favorece la interacción por fuerzas de London con la cadena carbonada de la pectina; si bien, el metanol presenta un comportamiento de solubilidad similar al etanol en medio acuoso, la solubilidad de la pectina es menor en dicho solvente. Ahora bien, la acetona es solvente polar aprótico, por lo cual los puentes de hidrógeno no se favorecen, por ello la solubilidad fue menor en este solvente. Por otro lado, como se define en la mayoría de los textos, la pectina es un heteropolisacárido complejo, lo cual implica que contiene una variedad de monosacáridos y polisacáridos en su estructura, como glucosa, manosa, fructosa, entre otras, que también son responsables del comportamiento de solubilidad de la pectina obtenida; y la mayoría de estos azúcares neutros tienen una mayor solubilidad en solución etanólica (Yapo, 2009).

#### 7.1.4. Grado de metoxilación y porcentaje de grupos carboxilo

De acuerdo con la Tabla 3, se observa que la pectina obtenida se clasifica como pectina de alto contenido de metoxilo o esterificada, dado que presenta valores superiores al 50%. Se encuentra que la pectina con mayor grado de esterificación es la muestra tratada con AN pH2 y AC pH3, con un valor cercano al 83%. Por su parte, la muestra con mayor contenido de ácidos libres (-COOH) es la pectina obtenida bajo condiciones de hidrólisis con AC pH2. De acuerdo con los resultados de otras investigaciones como Nazaruddin, R., Noor Baiti, A. A., Foo, S. C., Tan, Y. N. and Ayob, (2013) y (Ramos Valentina, 2016), se encuentra que las condiciones ácidas fuertes favorecen grados de esterificación o metoxilación menores, debido a que se favorecen los procesos de hidrólisis de los grupos -OCH<sub>3</sub>, disminuyendo el contenido de estos y aumentando el contenido de grupos ácidos carboxílicos libres -COOH. Si comparamos entre ácidos, en orden de acidez se tiene ACI > AN > AA > AC; sin embargo, se observa que las muestras con menor %DM son ACI pH2 y AA pH3, lo que permite concluir que entre ácidos orgánicos como AA y AC se cumple que el ácido más fuerte (AA) tiene menor %DM, y para el caso de ácidos inorgánicos ACI y AN, el ácido más fuerte (ACI) también presenta menor %DM. Sin embargo, no se observa un comportamiento característico a los diferentes valores de pH, ya que hay gran variabilidad de los resultados, según estudios reportados por (Ma et al., 2013) donde el valor del pH interviene significativamente en el %DM, para valores de 1,5 y 2, utilizando ácidos orgánicos se obtuvieron valores de esterificación entre 42-71%. De forma general se observó que la pectina obtenida de cáscaras de plátano cultivado en Colombia y de la especie *Musa paradisiaca* son de alto grado de metoxilo; y que se observa diferencia significativa entre el tipo de ácido orgánico, pero no en el valor de pH en la extracción; esto de acuerdo con los resultados obtenidos por titulación potenciométrica.

Tabla 3. Resultados de del grado de metoxilación y grupos carboxilo obtenido por titulación potenciométrica.

Muestra	Grado de metoxilación %DM	Kf	Ke	Número total de ácidos libres Kf+Ke
ACI pH2	74,6 ±4,0	0,7 ±0,0	2,0 ±0,4	2,7 ±0,4
ACI pH3	78,4 ±3,0	0,7 ±0,2	2,4 ±0,5	3,1 ±0,7
AN pH2	83,0 ±3,8	0,5 ±0,1	2,6 ±0,1	3,1 ±0,1

<b>ANpH3</b>	79,6 ±2,5	0,6 ±0,1	2,3 ±0,3	2,9 ±0,5
<b>ACpH2</b>	77,7 ±3,2	0,8 ±0,1	2,6 ±0,3	3,4 ±0,4
<b>ACpH3</b>	83,8 ±0,7	0,5 ±0,0	2,3 ±0,1	2,8 ±0,1
<b>AApH2</b>	77,1 ±4,9	0,5 ±0,0	1,6 ±0,4	2,0 ±0,4
<b>AApH3</b>	72,7 ±14,2	0,5 ±0,3	1,4 ±0,3	2,0 ±0,1

### 7.1.5. Análisis FTIR

De acuerdo con la Figura 5, se observan las bandas características de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido cítrico (AC) a pH 2 y 3. Se identifica la señal en  $3420\text{ cm}^{-1}$  la cual se atribuye a la extensión -OH de los grupos hidroxilo del esqueleto de la pectina, y la cual puede estar solapada con los grupos hidroxilo del grupo funcional ácido carboxilo (-COOH). En  $2930$  y  $2870\text{ cm}^{-1}$ , encontramos señales características del enlace C-H de grupos alquilo  $\text{CH}_2$ . La banda en  $1737\text{ cm}^{-1}$  que se observa más definida y con mayor intensidad en la pectina extraída a pH 2, es característica del enlace C=O grupo carbonilo de éster (-COOCH<sub>3</sub>). En  $1639\text{ cm}^{-1}$ , se observa la señal del grupo carboxilato (-COO<sup>-</sup>). De acuerdo con esto, se puede decir de forma cualitativa que la muestra a pH 2 presenta mayor grado de metoxilación, es decir, menos grupos ácidos carboxílicos libres. La banda en  $1420\text{ cm}^{-1}$  es una flexión del enlace CH, y señales asociadas a grupos amida primaria. En la región de  $1160\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$  se encuentran bandas características de estiramiento del enlace C-O-C (Ogutu & Mu, 2017).

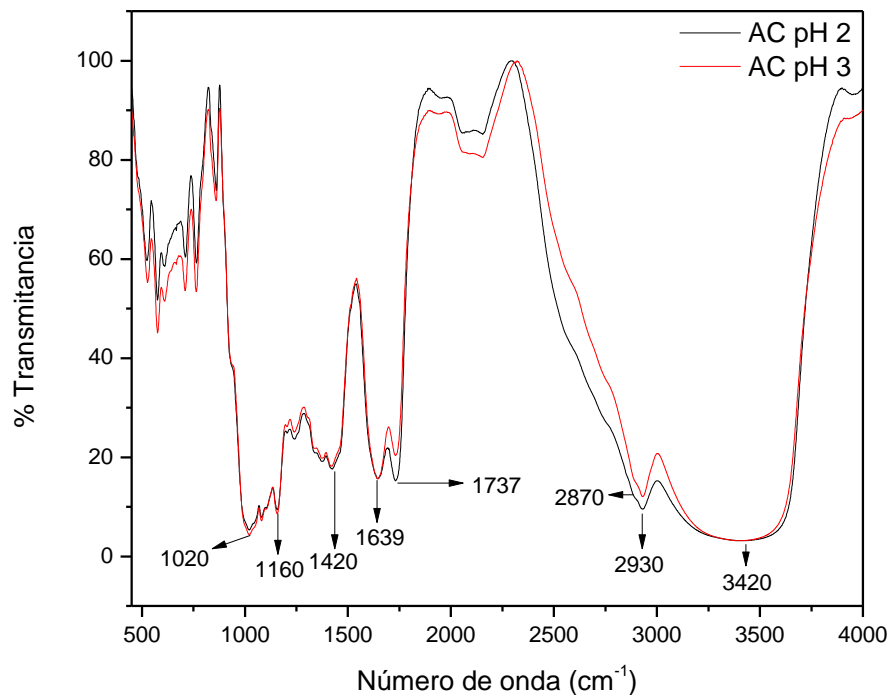


Figura 5. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido cítrico (AC) pH 2 y pH 3.

Por otra parte, al comparar la caracterización cualitativa por FTIR con los resultados obtenidos por titulación potenciométrica para las muestras AC a pH2 y pH 3, se observa que la muestra de pectina extraída a pH 2 presenta un grado de esterificación (77,7%) y un número de ácidos carboxílicos libres (3,4%); lo cual no es coherente con lo observado en la intensidad de las bandas. Esto se debe a que la caracterización en medio acuoso puede estar afectada por factores de solubilidad, donde las cadenas de polímero pueden estar enrolladas y no presentar todos los grupos ácidos expuestos durante la titulación, induciendo un error en la cuantificación. Este comportamiento de polímero tipo enrollado o coil, se argumenta mediante los resultados obtenidos previamente por el grupo de investigación en la obtención de nanopartículas, donde se observa que en medio acuoso la pectina forma sistemas coloidales (Méndez, Vásquez, Gartner, & López, 2017), ya que los polímeros que presentan propiedades anfifílicas tienden a formar autoensambles, exponiendo los grupos polares al

medio y los grupos hidrofóbicos al interior. Para hacer un análisis proximal del grado de metoxilación, se utilizó la deconvolución de las bandas en 1639 y 1737  $\text{cm}^{-1}$  del espectro de la pectina,

Figura 6, y de acuerdo con la ecuación 7, se obtuvo que la pectina obtenida a pH 2 presenta un %DM del 74,2%, mientras que la pectina obtenida a pH 3 presentó un %DM del 55,1%; evidenciando que la pectina pH 2 tiene mayor grado de esterificación, Tabla 4.

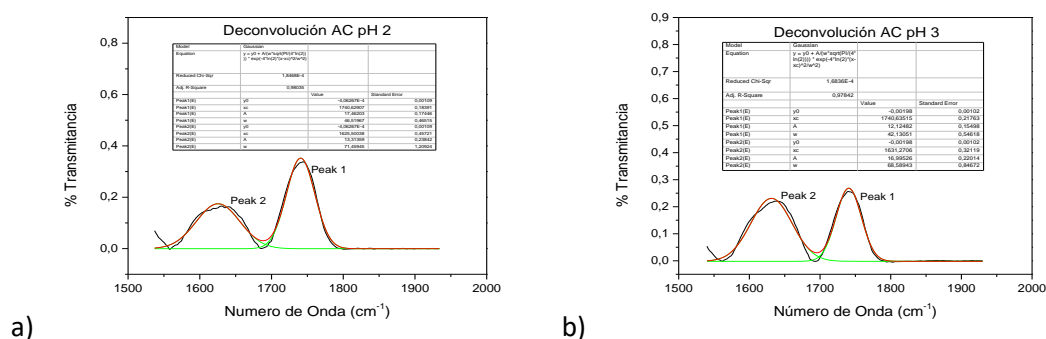


Figura 6. Deconvolución de las bandas 1639 y 1737  $\text{cm}^{-1}$  del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con AC a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AC a pH3.

Ahora bien, la muestra de pectina extraída con AA también presenta las mismas bandas características observadas en el espectro infrarrojo de la pectina obtenida con AC, Figura 7, con ligeros cambios en los valores de las señales identificadas. La banda en 1747  $\text{cm}^{-1}$  que se observa más definida y con mayor intensidad en la pectina extraída a pH 2, es característica del enlace C=O grupo carbonilo de éster ( $-\text{COOCH}_3$ ). En 1633  $\text{cm}^{-1}$ , se observa la señal del grupo carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ). De acuerdo con esto, se puede decir de forma cualitativa que la muestra a pH 2 presenta mayor grado de metoxilación, es decir, menos grupos ácidos carboxílicos libres.

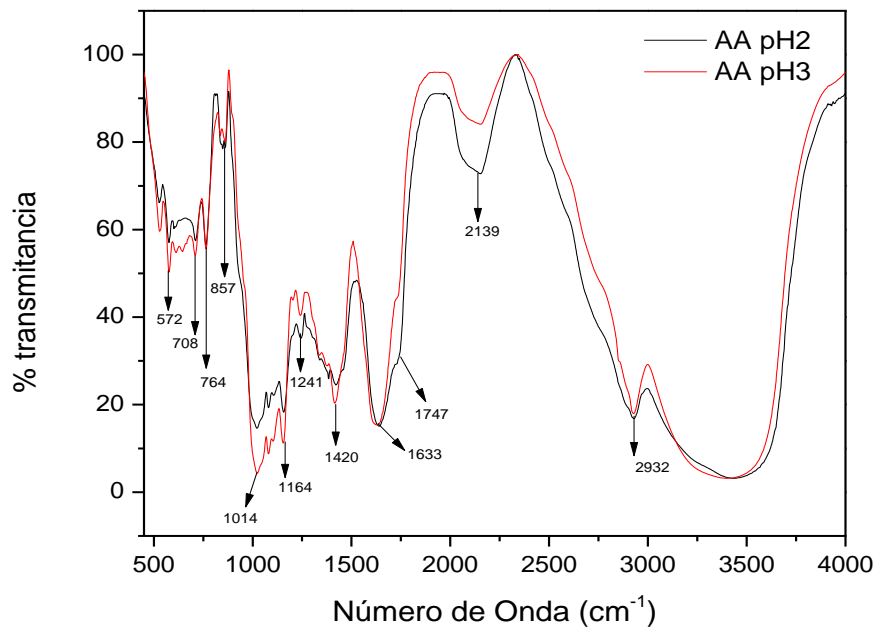
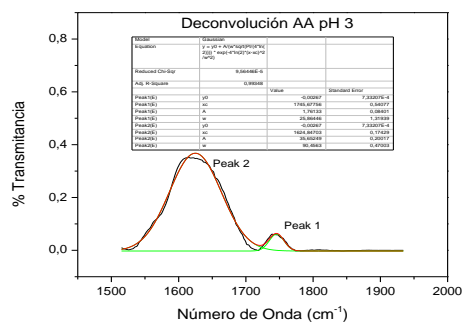
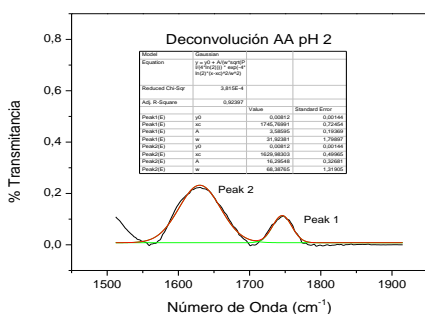


Figura 7. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido acético pH 2 y pH 3.

Al comparar el análisis cualitativo de las bandas con los resultados obtenidos por titulación potenciométrica, se observa una coherencia en los resultados, encontrándose que la muestra a pH 2 tiene un valor de %DM de 77,1%, mientras que a pH 3 fue de 72,7%. Siguiendo con el análisis realizado en el aparato anterior de acuerdo con la deconvolución de las bandas, Figura 8, se encuentra un valor mayor de %DM (25,2%) para la pectina extraída con AA a pH 2, mientras que a pH 3 el %DM fue del 8,4%; lo cual muestra coherencia con lo obtenido por titulación potenciométrica, Tabla 4.



a)

b)

Figura 8. Deconvolución de las bandas 1633 y 1747  $\text{cm}^{-1}$  del espectro de la pectina obtenida por hidrólisis con AA a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AA a pH3.

Para los ácidos inorgánicos se encuentra que la pectina obtenida con  $\text{ACl}$  pH2 y pH3, Figura 9, la banda reportada en  $1728 \text{ cm}^{-1}$  que se observa más definida y con mayor intensidad en la pectina extraída a pH 3, es característica del enlace  $\text{C}=\text{O}$  grupo carbonilo de éster ( $-\text{COOCH}_3$ ). En la banda  $1632 \text{ cm}^{-1}$ , se observa la señal del grupo carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) con mayor intensidad en la pectina extraída a pH 2; se puede corroborar de forma cualitativa que la pectina extraída a pH 3 contiene mayor grado de metoxilación. De acuerdo con los resultados obtenidos por titulación potenciométrica, se encontró una coherencia con el análisis cualitativo obtenido por FTIR, ya que la muestra con pH3 presenta mayor grado de metoxilación (78,4%).

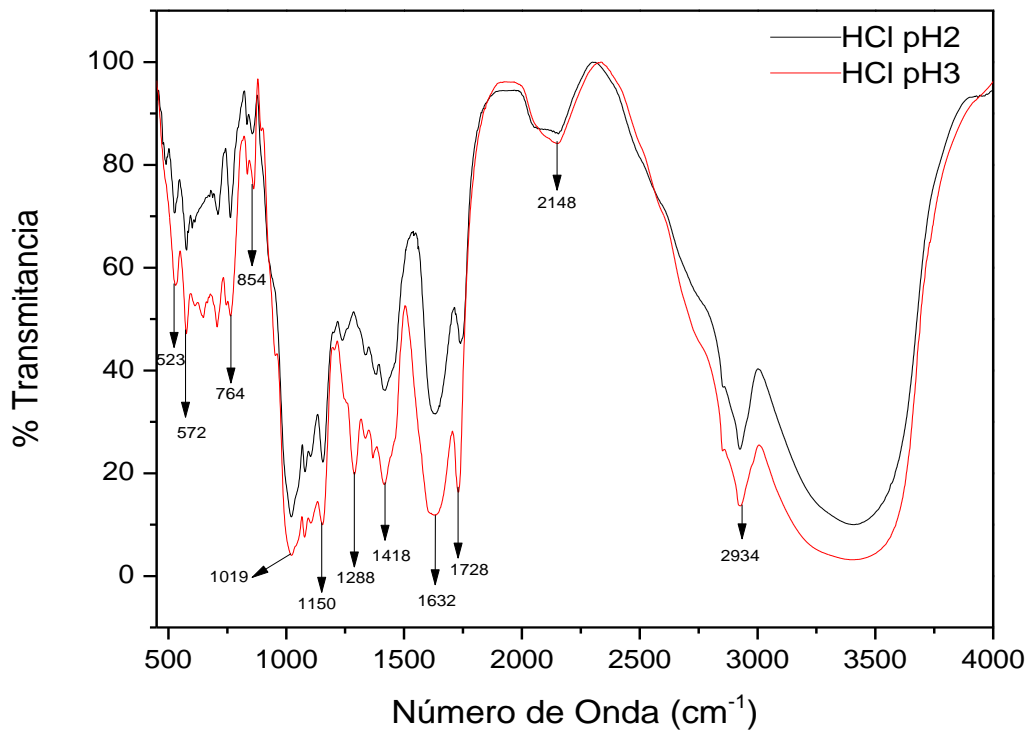


Figura 9. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido clorhídrico (ACI) pH 2 y pH 3

Al analizar los resultados de la deconvolución de las bandas en 1632 y 1728  $\text{cm}^{-1}$ , Figura 10, se encuentra similitud en el comportamiento para el %DM, es decir, la muestra ACI pH 3 tiene un valor mayor para el %DM (38,2%) en comparación CON ACI pH 2 (33,5%), Tabla 4.

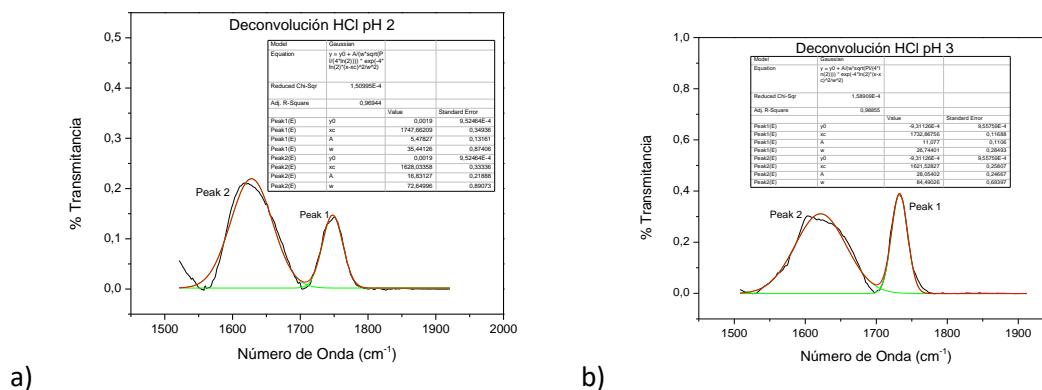


Figura 10. Deconvolución de las bandas 1632 y 1728  $\text{cm}^{-1}$  del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con HCl a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con HCl a pH3.

Finalmente, la Figura 11 muestra las bandas características de la pectina obtenida con AN a pH 2 y pH 3. Además, de las bandas características de los grupos alifáticos y enlace C-O, se observa las bandas en 1626  $\text{cm}^{-1}$  y 1730  $\text{cm}^{-1}$  características de los grupos ácidos carboxílicos libres y esterificados, respectivamente. Se observa de forma cualitativa que las muestras tienen bajo contenido de metoxilo y que la banda de ácido carboxílico es más intensa para la muestra a pH 3. Según la comparación con los resultados obtenidos por los cálculos potenciométricos se observa que la muestra a pH 3 tiene menor grado de metoxilación con un valor de 79,6%, mientras a pH se tiene un valor de 83,0%; lo cual muestra coherencia con el análisis cualitativo, donde una mayor intensidad de la banda en 1626  $\text{cm}^{-1}$  para la muestra a pH 3, indica menor grado de esterificación.

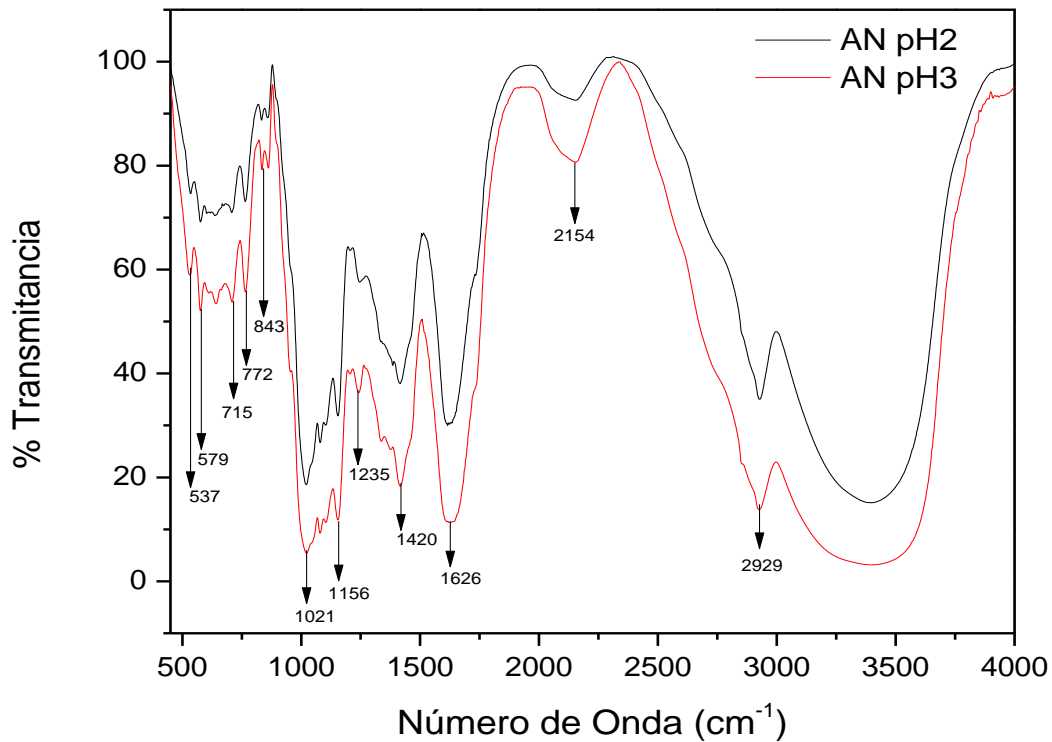
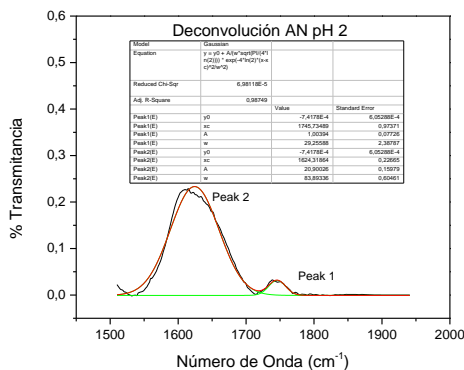
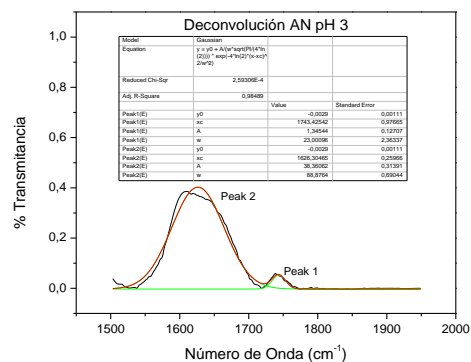


Figura 11. Análisis infrarrojo de la pectina obtenida por hidrólisis con ácido nítrico (AN) pH 2 y pH 3.

Al analizar los resultados de la deconvolución de las bandas en 1626 y 1730  $\text{cm}^{-1}$ , Figura 12, se encuentra similitud en el comportamiento para el %DM, es decir, la muestra AN pH 2 tiene un valor mayor para el %DM (8,4%) en comparación con AN pH 3 (6,8%), Tabla 4.



a)



b)

Figura 12. Deconvolución de las bandas 1626 y 1730  $\text{cm}^{-1}$  del espectro de la pectina a) obtenida por hidrólisis con AN a pH2, y b) obtenida por hidrólisis con AN a pH3.

Al observar la Tabla 4 se encuentra que los valores obtenidos por FTIR a través de la ecuación 7 y 8 no tienen coherencia con los valores obtenidos por titulación potenciométrica pero si evidencian una tendencia similar; cabe resaltar que esta ecuación fue desarrollada para pectinas de peso molecular bajo (Zainudin et al., 2018) y peso molecular medio (Jittra S., Steve W. Cui, Ningsanond, S., H. Douglas, 2004), respectivamente, por lo cual posiblemente no sean adecuadas para ser utilizadas con las pectinas obtenidas en este trabajo. Pero son un indicativo de la coherencia entre los métodos para determinar el grado de esterificación (DE) o grado de metoxilación (DM).

Tabla 4. Comparación de los resultados del %DM obtenidos por titulación potenciométrica (TP) y por FTIR.

<b>Muestra</b>	<b>Grado de metoxilación %DM por TP</b>	<b>Grado de metoxilación %DM por FTIR-Ec.7*</b>	<b>Grado de esterificación %DE por FTIR-Ec.8*</b>
<b>AClpH2</b>	74,6	33,5	47,0
<b>AClpH3</b>	78,4	38,2	50,8
<b>ANpH2</b>	83,0	8,4	78,7
<b>ANpH3</b>	79,6	6,8	77,3
<b>ACpH2</b>	77,7	74,2	29,6
<b>ACpH3</b>	83,8	55,1	29,0
<b>AApH2</b>	77,1	25,2	39,1
<b>AApH3</b>	72,7	8,4	30,0

\*Ec.7: ecuación 7, Ec.8: ecuación 8

### 7.1.6. Viscosidad dinámica y cinemática

En general, la viscosidad es la medida de la resistencia de un líquido a su deformación. La Tabla 5 presenta los resultados obtenidos para la viscosidad dinámica y cinemática, y la densidad. Se observa que las muestras con mayor valor de viscosidad son AClpH2, ACpH3

y AApH3; lo cual puede indicar que son las muestras con un peso molecular mayor, esto teniendo en cuenta que la viscosidad dinámica implica una resistencia a que las láminas del polímero se deslicen entre sí. Así, la pectina extraída con ácidos orgánicos (AC y AA) a mayor pH (3) favorece la obtención de sistemas con mayor peso molecular; posiblemente porque la fuerza iónica es menor y evita la degradación de las cadenas de polímero (Ju & Rojas, 2009).

Tabla 5. Resultados de viscosidad dinámica y cinemática, y densidad de la pectina obtenida.

<b>Muestra de pectina</b>	<b>Viscosidad dinámica (mPa*s)</b>	<b>Viscosidad cinemática (mm<sup>2</sup>*s)</b>	<b>Densidad (g/cm<sup>3</sup>)</b>
<b>ACIpH2</b>	137,5	139,9	0,98
<b>ACIpH3</b>	47,1	47,6	0,99
<b>ANpH2</b>	61,2	62,0	0,99
<b>ANpH3</b>	29,7	30,4	0,98
<b>ACpH2</b>	71,6	73,3	0,98
<b>ACpH3</b>	363,3	368,4	0,99
<b>AApH2</b>	57,3	58,4	0,98
<b>AApH3</b>	185,8	188,6	0,98

Blanco presentó una viscosidad dinámica de 1,90 mPa\*s y una viscosidad cinemática de 1,95 mm<sup>2</sup>/s.

La viscosidad también es una propiedad que determina la aplicación de la pectina, dado que está relacionada con el peso molecular de la pectina. Se ha encontrado que pectinas con peso molecular alto permiten nivelar los niveles de glucosa en el organismo, dado que reducen la absorción de glucosa en la sangre y, por lo tanto, se disminuye la producción de insulina en el páncreas. Además, se ha mostrado que reducen los niveles de colesterol; las pectinas de alto metoxilo y mayor viscosidad tienen la capacidad de formar geles viscosos que se unen al colesterol y los ácidos biliares, promoviendo su excreción y reduciendo la reabsorción (Ju & Rojas, 2009). En este trabajo se observa que las pectinas obtenidas con ácidos inorgánicos presentan un valor de viscosidad dinámica menor, en comparación con la pectina obtenida con ácidos orgánicos; lo cual implica que la pectina obtenida con los ácidos orgánicos tiene mayor resistencia o menos fluidez, lo cual puede ser indicativo de tener un peso molecular mayor (Kurita, Fujiwara, & Yamazaki, 2008).

La Figura 13 evidencia que los ácidos fuertes como el AN, ACI y el AA, favorecen la extracción de pectinas con menor viscosidad; lo cual puede estar asociado a que se obtienen

pesos moleculares menores, dado que estas condiciones de hidrólisis son más fuertes que el AC (Rouse, Crandall, & Alfred, 1976) pueden generar mayor degradación del polímero, logrando cadenas más cortas y por ende una viscosidad menor (Siddiqui et al., 2016). Por su parte, la densidad de las diferentes pectinas no muestra una diferencia significativa, en promedio tienen un valor de 0,98-0,99 g/cm<sup>3</sup>.

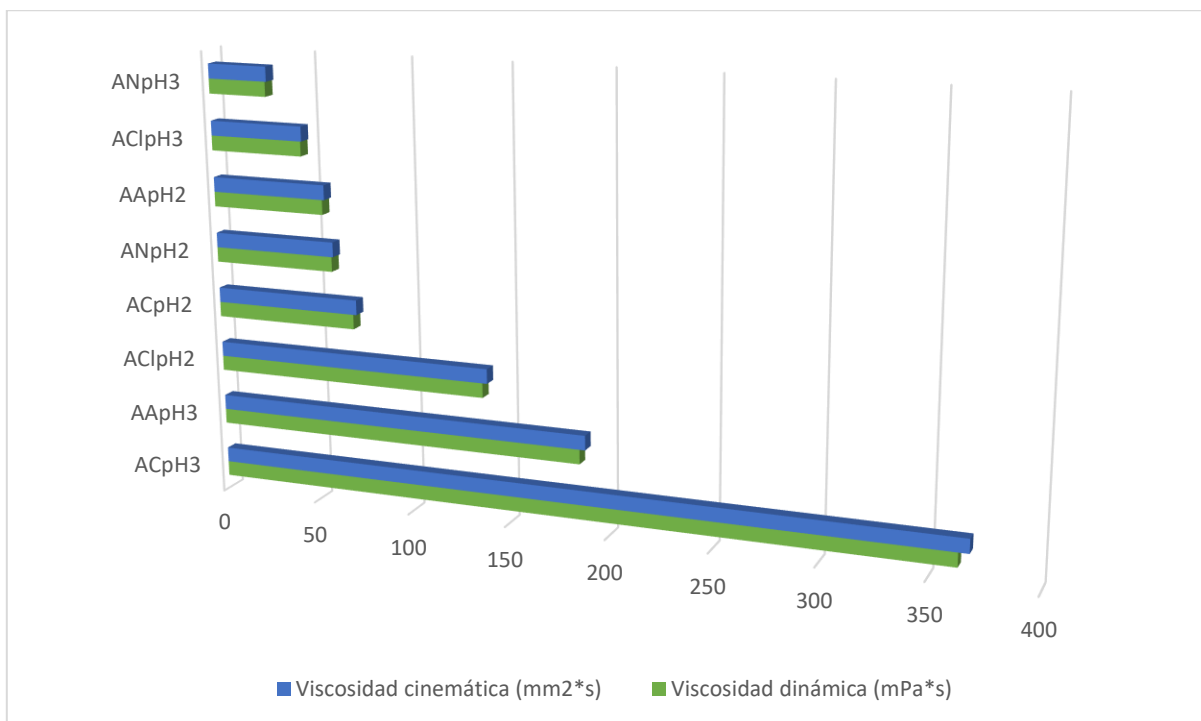


Figura 13. Viscosidad dinámica y cinemática en orden creciente.

## 7.2. Preparación de las nanopartículas a partir de la pectina extraída

Un sistema coloidal es un sistema heterogéneo, el cual se basa en pequeñas partículas dispersas en una solución (Su, 2013). En este trabajo se evaluó la obtención de sistemas coloidales a partir de pectina con diferentes propiedades fisicoquímicas (viscosidad y grado de metoxilación), y cómo estas influyen en el tamaño de partícula, PdI y carga superficial de los coloides.

Las muestras seleccionadas para obtener las nanopartículas fueron ACIpH2 por su menor grado de esterificación para ácidos inorgánicos, de acuerdo con la titulación potenciométrica

(74,6%) y ACpH3 por tener un mayor grado de esterificación para ácidos orgánicos (83,8%); además, teniendo en cuenta que la viscosidad de la pectina obtenida con ácidos fuertes es menor (AN, ACI, AA), lo cual podría ser indicativo que estas pectinas presenten un peso molecular menor, y que para el caso de los ácidos orgánicos AC la viscosidad es mayor, se puede analizar el efecto de las propiedades como grado de esterificación y peso molecular (PM) en la obtención de nanopartículas.

De acuerdo con la Figura 14, se observa que a menor concentración de pectina se favorece un menor tamaño de partícula  $>300$  nm. Se observa que la pectina ACpH3, con mayor viscosidad, posiblemente mayor peso molecular y grado de esterificación, presenta un tamaño de partícula más homogéneo a diferentes concentraciones; esto se debe posiblemente a las interacciones hidrofóbicas de los grupos metoxilo presentes en la estructura y a las repulsiones electrostáticas de los grupos carboxilo, que favorecen la formación de sistemas coloidales más estables (Jonassen, Treves, Kjøniksen, Smistad, & Hiorth, 2013); aunque presentan mayor grado de esterificación, esto no implica que no presente grupos ácidos carboxílicos, pues como se observó en la Tabla 3 el número porcentual de ácidos carboxílicos totales para la pectina obtenida con ACpH3 y ACI pH2 fue de  $2,8 \pm 0,1$  y  $2,7 \pm 0,4$ , respectivamente, lo cual es significativamente diferente. Dado que ACpH3 tiene un peso molecular mayor que la muestra ACI pH2, a lo largo de la cadena presenta mayor grupos carboxilato que pueden estabilizar el sistema por repulsión electrostática.

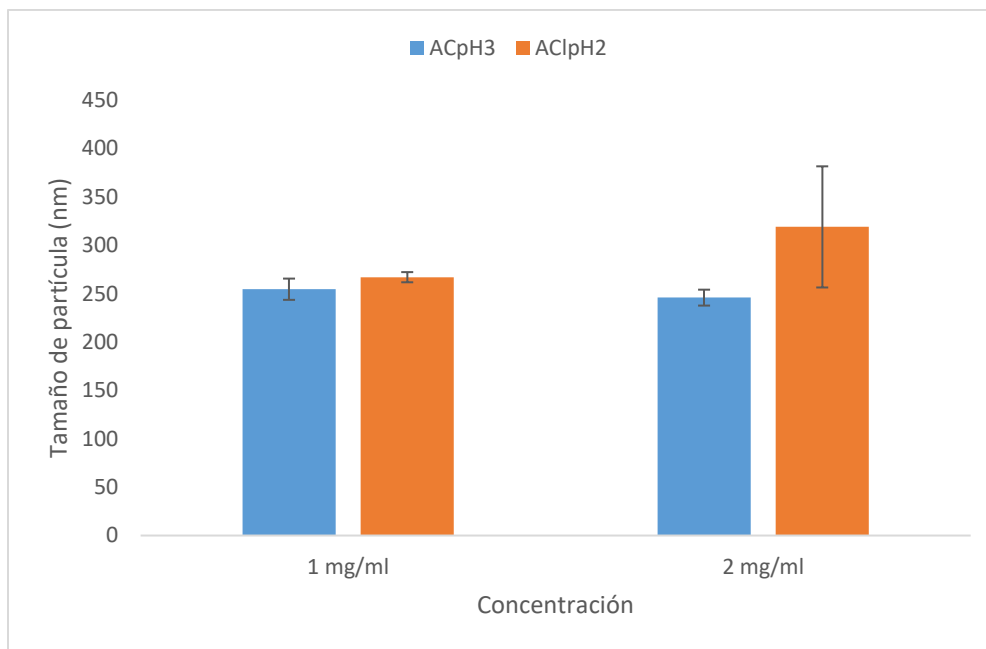


Figura 14. Tamaño de partícula de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACIpH2, con concentración 1 y 2 mg/ml.

La Figura 15 evidencia lo dicho anteriormente para la pectina ACpH3, ya que se encontró un potencial zeta más negativo para esta pectina (-45 mV). El mayor peso molecular y longitud de cadena mayor, permiten que los grupos  $\text{-COO}^-$  estén más expuestos y distribuidos a lo largo de la cadena; evidenciando un potencial zeta más negativo, independiente de la concentración. Por su parte, la muestra con menor viscosidad y un menor ligero grado de esterificación, presenta un potencial zeta (-14 mV) menos negativo, indicando que presenta menos grupos ácidos carboxílicos en su estructura, posiblemente porque presenta cadenas más cortas dado su bajo peso molecular.

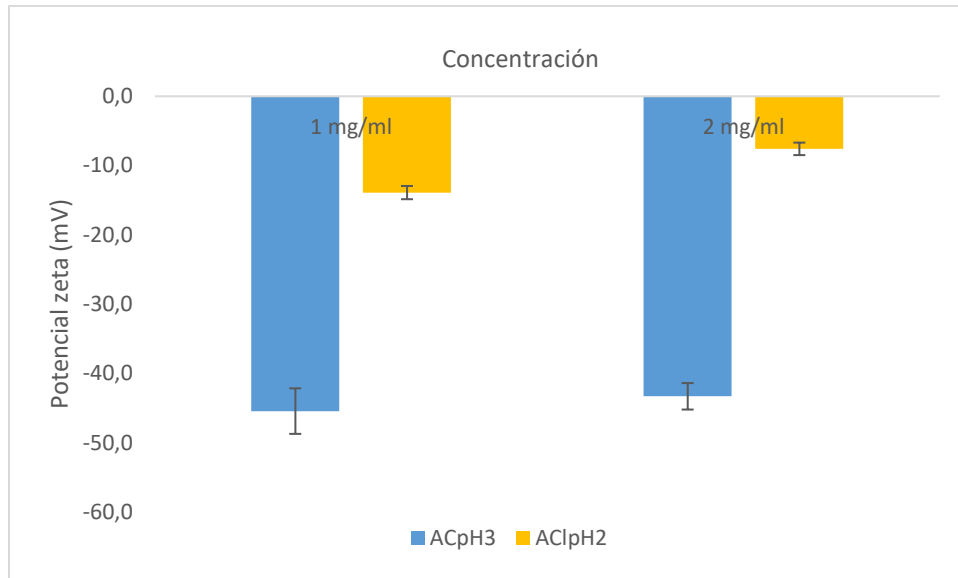


Figura 15. Potencial zeta de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACIpH2, con concentración 1 y 2 mg/ml.

La Figura 16 evidencia la estabilidad o distribución de tamaño de partícula. La pectina ACIpH2 presenta una distribución de tamaño más amplia ( $PdI > 0,3$ ) independiente de la concentración de pectina, esto debido a que el PM bajo no favorece las interacciones intermoleculares como las interacciones hidrofóbicas entre los grupos metoxilo, dada la heterogeneidad de las cadenas del polímero. Por su parte, la pectina ACpH3 presenta un tamaño homogéneo a una concentración de 1 mg/mL, y en comparación con la pectina ACIpH2 presenta mejor distribución de tamaño de partícula. En consecuencia, pectinas con mayor viscosidad y grado de metoxilo permiten obtener sistemas coloidales homogéneos y estables a una concentración de 1 mg/mL.

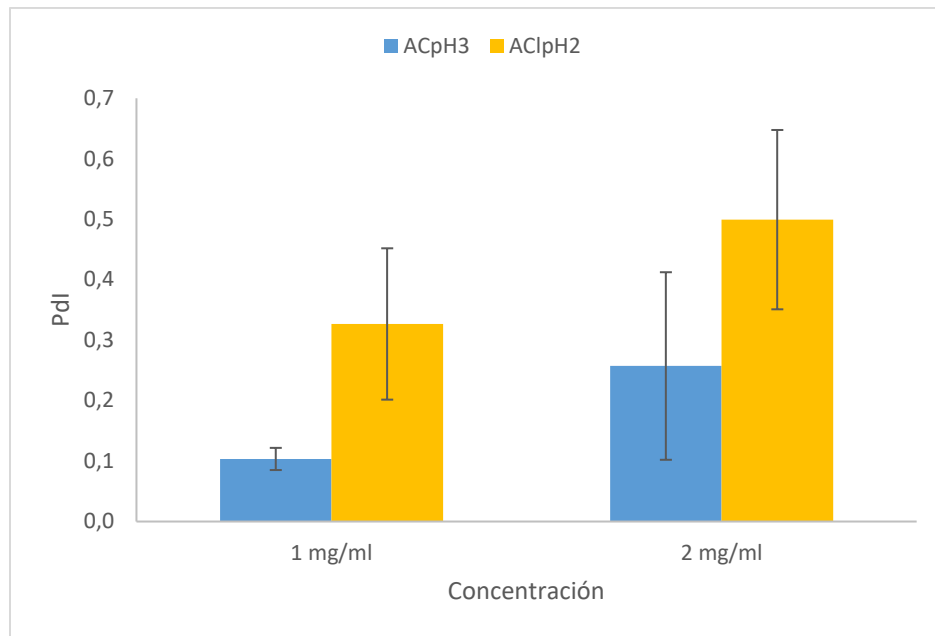


Figura 16. PDI de los sistemas coloidales obtenidos con la pectina ACpH3 y ACIpH2, con concentración 1 y 2 mg/ml.

## 8. CONCLUSIONES

- La pectina se extrajo bajo condiciones de hidrólisis ácida de cáscaras de plátano cultivado en Colombia y de la especie *Musa paradisiaca*, donde el tipo de ácido y las condiciones de reacción encontradas como óptimas para el proceso de extracción, presentan un efecto importante en las propiedades como rendimiento de extracción (AN pH 2), grado de esterificación (AC pH 3 y AN pH 2), viscosidad y a su vez, posibles diferencias en el peso molecular. De esta manera, los ácidos fuertes (ACI y AN) favorecen mayor rendimiento de extracción, menor %DM debido a las fuertes condiciones de hidrólisis; y menor viscosidad dinámica y cinemática, lo que lleva a pensar que se obtienen pectinas con menor PM.
- La pectina extraída permite obtener sistemas coloidales como nanopartículas con tamaños menores a 300 nm; encontrándose que el grado de esterificación de la pectina, viscosidad y el peso molecular influyen en el tamaño de partícula, PdI y potencial zeta de los coloides; logrando obtener sistemas coloidales más estables con pectina de mayor grado de esterificación (ACpH3); dado que las interacciones hidrofóbicas de los grupos metoxilo, el peso molecular “mayor” y las repulsiones electrostáticas de los grupos carboxilo a lo largo de las cadenas del polímero, favorecen la formación de partículas y su estabilidad en medio acuoso.

## **9. PERSPECTIVAS**

Teniendo en cuenta que se realizó la extracción a dos valores de pH y ácidos diferentes, es importante evaluar el efecto de la concentración, dado que esta no fue igual para todos los sistemas. Por lo cual, se propone plantear la extracción a la misma concentración molar.

Dada la importancia de la técnica FTIR para determinar el %DM se pueden consultar otras fuentes y hacer los respectivos cálculos con otras ecuaciones que se ajusten a las propiedades de la pectina obtenida; ya que los modelos reportados son para pectinas de naranja y manzana.

Dado que no se determinó el peso molecular de forma directa, es importante corroborar dicha información a través de medidas de viscosidad intrínseca para obtener un valor exacto del peso molecular de cada pectina, y así comparar con lo analizado desde la viscosidad dinámica.

Teniendo en cuenta que una potencial aplicación de los nanotransportadores es la encapsulación de principios activos, como complemento a este trabajo se puede plantear un diseño experimental de encapsulación de una molécula hidrofóbica, donde se evalúe la capacidad de carga y eficiencia de encapsulación con la pectina ACpH3, la cual permitió obtener nanopartículas con tamaños menores y homogéneos.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ahlin Grabnar, P., & Kristl, J. (2010). Physicochemical characterization of protein-loaded pectin-chitosan nanoparticles prepared by polyelectrolyte complexation. *Pharmazie*. <https://doi.org/10.1691/ph.2010.0197>
- Aravantinos-Zafiris, G., & Oreopoulou, V. (1992). The effect of nitric acid extraction variables on orange pectin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(1), 127–129. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600120>
- Arellanes M. A., Jaraba, Z. Mármol, G. Páez, C. Aiello Mazzarri, M. Rincón (2011). Obtención y caracterización de pectina de la cascara del cambur manzano (Musa AAB). *Revista de la Facultad de Agronomía. (LUZ)*. 28: 523-539.
- Awat, M. R., Ingh, D. S., Araf, S. S., & Araf, S. S. (2006). Nanocarriers : Promising Vehicle for Bioactive Drugs, 29(9), 1790–1798.
- Bagherian, H., Zokaee Ashtiani, F., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11–12), 1237–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.08.002>
- Boчек, A. M., Zabivalova, N. M., & Petropavlovskii, G. A. (2001). Determination of the Esterification Degree of Polygalacturonic Acid. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 74(5), 796–799. <https://doi.org/10.1023/A:1012701219447>
- Braddock, R. J.; Crandall, P.G. y Kesterton, J.W. (1978). Pectin content of lime and lemon peel as extracted by nitric acid. *J. Food Sci.* 43, 72-73
- Burapapadh, K., Takeuchi, H., & Sriamornsak, P. (2016). Development of pectin nanoparticles through mechanical homogenization for dissolution enhancement of itraconazole. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2015.07.003>
- Castillo-Israel, K. A. T., Baguio, S. F., Diasanta, M. D. B., Lizardo, R. C. M., Dizon, E. I., & Mejico, M. I. F. (2015). Extraction and characterization of pectin from Saba banana [Musa 'saba'(Musa acuminata x Musa balbisiana)] peel wastes: A preliminary study. *International Food Research Journal*, 22(1), 202–207.
- Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F., & Hosseini, S. S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. *Carbohydrate Polymers*, 173, 107–113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.047>
- Cosgrove, D. J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(11), 850–861. <https://doi.org/10.1038/nrm1746>
- El-Nawawi, S. A., & Heikal, Y. A. (1995). Production of a low ester pectin by de-

- esterification of high ester citrus pectin. *Carbohydrate Polymers*, 27(3), 191–195. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00051-8](https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00051-8)
- Giardini, L., Re, F. Lo, Campagnol, D., Marangon, E., Posocco, B., Dreussi, E., & Toffoli, G. (2016). Nanocarriers in cancer clinical practice: a pharmacokinetic issue. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(2), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.07.012>
- Grassino, A. N., Brncic, M., Vikic-Topic, D., Roca, S., Dent, M., & Brncic, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.095>
- Happi Emaga, T., S. Ronkart, C. Robert, B. Wathelet y M. Paquot M. (2008) b.Characterization of pectin extracted
- Hua, X., Yang, H., Din, P., Chi, K., & Yang, R. (2018). Rheological properties of deesterified pectin with different methoxylation degree. *Food Bioscience*, 23(August 2017), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.03.011>
- Jitra S., Steve W. Cui, Ningsanond, S., H. Douglas, G. (2004). Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (Cissampelos pareira) pectin. *Carbohydrate Polymers*, 58, 391–400.
- Jonassen, H., Treves, A., Kjøniksen, A. L., Smistad, G., & Hiorth, M. (2013). Preparation of ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and monovalent cations. *Biomacromolecules*. <https://doi.org/10.1021/bm4008474>
- Ju, M. C. C., & Rojas, E. E. G. (2009). Density and Kinematic Viscosity of Pectin Aqueous Solution. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54(February 2009), 662–667. <https://doi.org/10.1021/jc800305a>
- Koh, P. C., Leong, C. M., & Noranizan, M. A. (2014). Microwave-assisted extraction of pectin from jackfruit rinds using different power levels. *International Food Research Journal*, 21(5), 2091–2097.
- Kurita, O., Fujiwara, T., & Yamazaki, E. (2008). Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 725–730. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.033>
- Liu, L., Fishman, M. L., & Hicks, K. B. (2007). Pectin in controlled drug delivery – a review. *Cellulose*, 14(1), 15–24. <https://doi.org/10.1007/s10570-006-9095-7>
- Ma, S., Yu, S. J., Zheng, X. L., Wang, X. X., Bao, Q. D., & Guo, X. M. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 750–753. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.042>
- Maciel, V. B. V., Yoshida, C. M. P., & Franco, T. T. (2015). Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. *Carbohydrate Polymers*, 132, 537–545. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.047>
- Melo, M.V., Torres, Y., Serna, J., Torres, L. (2015). Aprovechamiento de pulpa y cáscara de plátano (*musa paradisiaca* spp) para la obtención de maltodextrina. Biotecnología en el

Sector Agropecuario y Agroindustrial. 13(2), 76-85.

- Méndez, P. A., Vásquez, G. M., Gartner, C., & López, B. L. (2017). Chitosan/OA nanoparticle as delivery system for celecoxib: Parameters affecting the particle size, encapsulation, and release. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(7), 44472 (1-11). <https://doi.org/10.1002/app.44472>
- Mendoza Vargas, L., Jiménez Forero, J., & Ramírez Niño, M. (2018). Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1), 131–138. <https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n1.2017.70>
- Ministerio de Minas y Energía. (2006). Atlas del potencial energético de la biomasa residual en Colombia. Ministerio de Minas y Energía, Bogotá, Colombia
- Mishra, B., Patel, B. B., & Tiwari, S. (2010). Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(1), 9–24. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.008>
- Nazaruddin, R., Noor Baiti, A. A., Foo, S. C., Tan, Y. N. and Ayob, M. K. (2013). Comparative chemical characteristics of hydrochloric acid- and ammonium oxalate-extracted pectin from ... *International Food Research Journal* 20(1):, 20(1), 281–284.
- Neufeld, L., & Bianco-Peled, H. (2017). Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 852–861. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.167>
- Oakenfull, D. (1991). The chemistry of high-methoxyl pectins. In R. H. W. and S. Taylor (Ed.), *The chemistry and technology of pectin* (Academic P, pp. 87–108). San Diego.
- Ogutu, F. O., & Mu, T. H. (2017). Ultrasonic degradation of sweet potato pectin and its antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 726–734. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.08.014>
- Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Pereira, P. H. F., Moates, G. K., Wellner, N., ... Azeredo, H. M. C. (2016). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, 198, 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.080>
- Pagliari, M., National, I., Ciriminna, R., National, I., Marina, A., Fidalgo, A., ... Delisi, R. (2016). Pectin Production and Global Market. *Agro Food Industry Hi Tech*, 27(5), 17–20.
- Pawar, H. A., Kamat, S. R., & Choudhary, P. D. (2015). An Overview of Natural Polysaccharides as Biological Macromolecules : Their Chemical Modifications and Pharmaceutical Applications, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.4172/0974-8369.1000224>
- R. J. Braddock, P. G. C. and J. W. K. (1976). A Research Note Pectin Content of Meyer Lemon. *Journal of Food Science*, 41, 1486.
- Ramos Valentina, et al. (2016). Residuos de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca* L. ) para

obtener pectinas útiles en la industria alimentaria, 3(9), 22–29.

- Rampino, A., Borgogna, M., Bellich, B., Blasi, P., Virgilio, F., & Cesàro, A. (2016). Chitosan-pectin hybrid nanoparticles prepared by coating and blending techniques. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.01.004>
- Rouse, A. H., Crandall, P. G., & Alfred, L. (1976). Nitric Acid Extraction of Pectin From Citrus Peel. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 89, 166–168.
- Rural, M. de A. y D. (2000). Manual del Exportador de Frutas, Hortalizas y Tubérculos. Retrieved from <http://interletras.com/manualCCI/Frutas/PLATANO/platano02.htm>
- Sato, M. de F., Rigoni, D. C., Canteri, M. H. G., Petkowicz, C. L. de O., Nogueira, A., & Wosiacki, G. (2011). Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 33(3), 383–389. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i3.7125>
- Siddiqui, N. H., Azhar, I., Saleem, F., Mahmood, Z. A., Limited, C., & Way, V. (2016). Influence of Type of Inorganic Acid on Yield of Pectin From Different Fruit Peels and Effect on Sensory, 5(11). <https://doi.org/10.20959/wjpps201611-8032>
- Silva, N. C., Benites, E. A., & Gomero, J. C. M. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, (26), 175–199. <https://doi.org/ISSN 1025-9929>
- Siti Nor Azlina Abd Rashida, Surhanis Mohd Sukrib, R. A. (2016). Determination of pectin content in preparation of banana peel chips (PDF Download Available), (August). Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/307138697\\_Determination\\_of\\_pectin\\_content\\_in\\_preparation\\_of\\_banana\\_peel\\_chips](https://www.researchgate.net/publication/307138697_Determination_of_pectin_content_in_preparation_of_banana_peel_chips)
- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn University International Journal*, 3(1–2), 207–228. <https://doi.org/10.5458/jag.54.211>
- Su, W.-F. (2013). Principles of Polymer Design and Synthesis. In *Lecture Notes in Chemistry* (Vol. 82, pp. 9–26). Berlin, Heidelberg: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38730-2>
- Syed Mohamad Al-Azi, S. O., Tan, Y. T. F., & Wong, T. W. (2014). Transforming large molecular weight pectin and chitosan into oral protein drug nanoparticulate carrier. *Reactive and Functional Polymers*, 84, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.005>
- Vasquez, R., Ruesga, L., Daddosio, R., Páez, G., & Marín, M. (2008). Extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano (Musa AAB, subgrupo plátano) clon Hartón. *Revista de La Facultad de Agronomía (LUZ)*.
- Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., & Lúcia de Oliveira Petkowicz, C. (2012). Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. *LWT - Food Science and Technology*, 49(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.018>

- Yapo, B. M. (2009). Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. *Food Research International*, 42(8), 1197–1202. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.06.002>
- Zainudin, B. H., Wong, T. W., & Hamdan, H. (2018). Design of low molecular weight pectin and its nanoparticles through combination treatment of pectin by microwave and inorganic salts. *Polymer Degradation and Stability*, 147(November 2017), 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.11.011>
- Zegada, V. Y. (2015). Pectin extraction from Orange peels waste by Microwave assisted Acid Hidrolysis (MWAH). *Investigación & Desarrollo*, 1(15), 65–76. Retrieved from [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2518-44312015000100007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2518-44312015000100007&script=sci_arttext)
- Zhang, W., Xu, P., & Zhang, H. (2015). Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 44, 258–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.001>
- Zied Souguir, Elie About-Jaudet, Luc Picton, D. L. C. (2012). Anionic Polysaccharide Hydrogels with Charges Provided by the Polysaccharide or the Crosslinking Agent. *Drug Delivery Letters*, 2(4), 240–250. <https://doi.org/10.2174/2210304x11202040002>

## 11. ANEXOS

### 11.1. Registro fotográfico

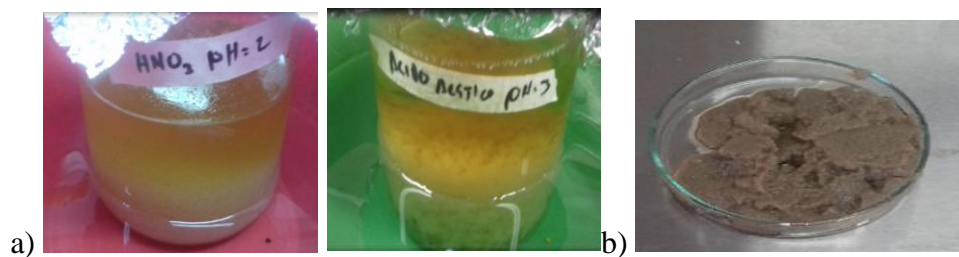


Figura 17. Fotografía de a) muestra de pectina precipitada con etanol y b) pectina después del proceso de filtrado.

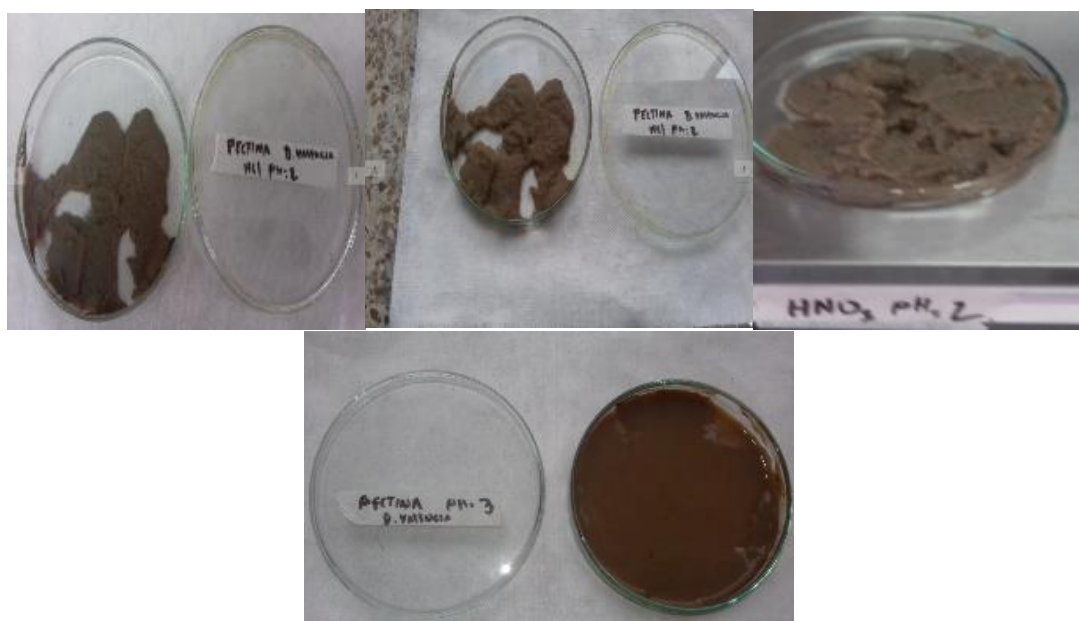


Figura 18. Pectina después del proceso de filtrado.

## 11.2. Gráficos estadísticos y análisis para el grado de metoxilación

### Atributos del Diseño Factor Categórico Individual

Clase de diseño: Factor Categórico Individual

Nombre del archivo: < Solubilidad Potenciométrica ACI pH2 >

#### Diseño Base

Número de factores experimentales: 1

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 6

Grados de libertad para el error: 2

Aleatorizar: Sí

Factores	Niveles	Unidades
V.P. ACI pH2	2	

Respuestas	Unidades
R1 - R2 - R3	

Tabla 6. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III ACI pH2.

#### Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V. Potenciométrica ACI pH2	0,326667	1	0,326667	15,08	0,0604
B:BLOQUE	0,123333	2	0,0616667	2,85	0,2600
RESIDUOS	0,0433333	2	0,0216667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,493333	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

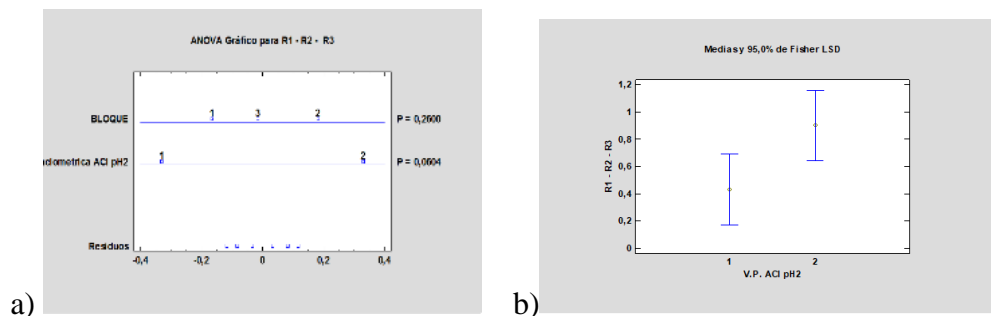


Figura 19. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza ACI pH 2 b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH2.

Según los resultados estadísticos reportados encontramos un valor por encima de  $p < 0,05$  mayor la cual nos da un porcentaje de confianza del 95% en la suma de los cuadrados semejantes en cada uno de los valores de hidróxido de sodio gastados en la titulación potenciométrica.

Tabla 7. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III ACI pH3.

**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. ACI pH3	0,881667	1	0,881667	132,25	0,0075
B:BLOQUE	0,0933333	2	0,0466667	7,00	0,1250
RESIDUOS	0,0133333	2	0,00666667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,988333	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

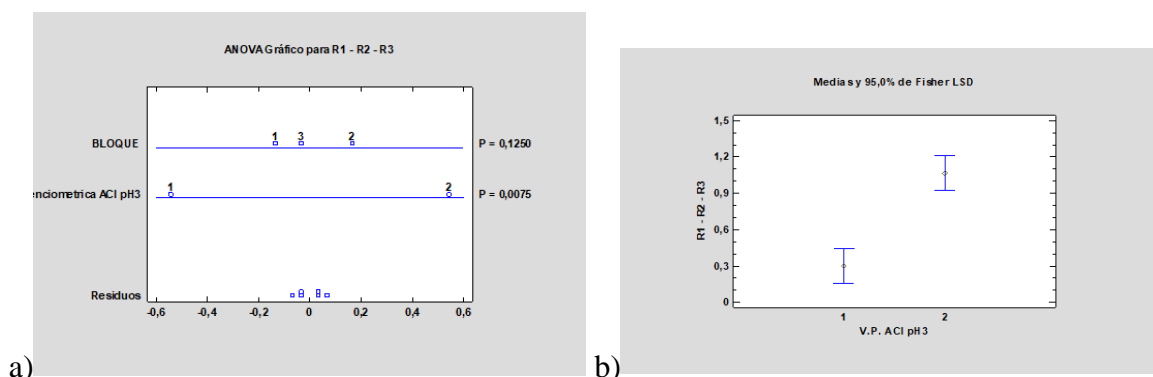


Figura 20. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza ACI pH 3 b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH3.

Según los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  que es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza esta hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados, se introduce el análisis de múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 8. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. ACI pH3.

**Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V.P. ACI pH3**

Método: 95,0 porcentaje LSD

V.P. ACI pH3	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	3	0,3	0,0471405	X
2	3	1,06667	0,0471405	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,766667	0,286844

\* indica una diferencia significativa.

Con este método utilizado detectamos cuales son la media con valor significativamente diferentes, ésta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla 9. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AN pH2.

**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. AN pH2	1,215	1	1,215	243,00	0,0041
B:BLOQUE	0,00333333	2	0,00166667	0,33	0,7500
RESIDUOS	0,01	2	0,005		
TOTAL (CORREGIDO)	1,22833	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

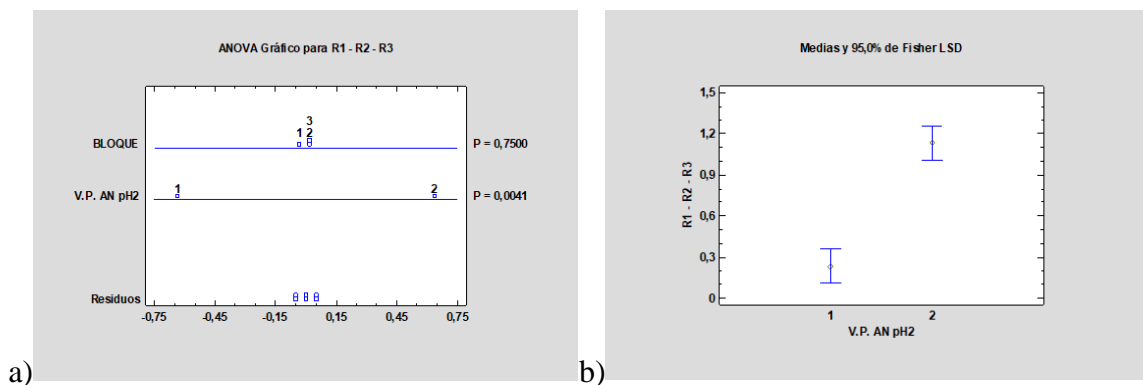


Figura 21. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AN pH 2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH2

Dentro los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza la hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados esto se puede determinar en la tabla b) donde se observa la distancia de la suma de los cuadrados, se introduce el

análisis de múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 10. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH2

**Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V.P. AN pH2**

Método: 95,0 porcentaje LSD

V.P. AN pH2	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	3	0,233333	0,0408248	X
2	3	1,13333	0,0408248	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,9	0,248414

\* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 11. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AN pH3.

**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. AN pH3	0,881667	1	0,881667	132,25	0,0075
B:BLOQUE	0,04	2	0,02	3,00	0,2500
RESIDUOS	0,0133333	2	0,00666667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,935	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

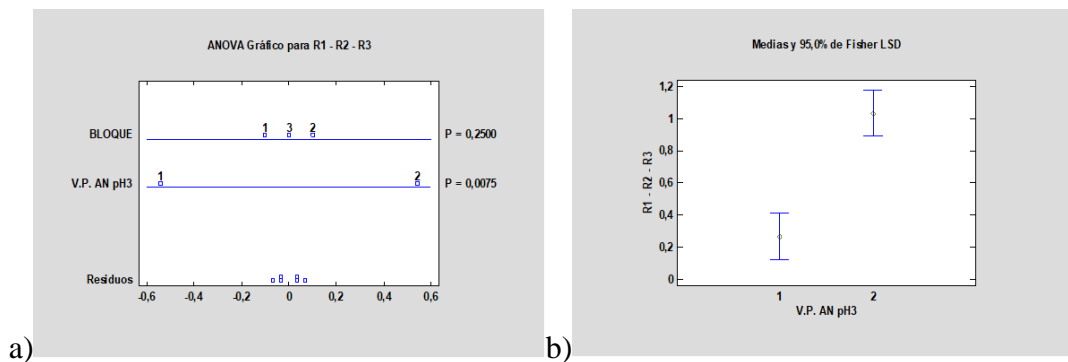


Figura 22. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AN pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH3.

Dentro los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza la hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados, se introduce el análisis de múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AN pH3

**Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V.P. AN pH3**

Método: 95,0 porcentaje LSD

V.P. AN pH3	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	3	0,266667	0,0471405	X
2	3	1,033333	0,0471405	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,766667	0,286844

\* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que esta debajo de la casilla Sig 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento

de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 13. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AC pH2

**Análisis de Varianza para R1- R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. AC pH2	1,04167	1	1,04167	89,29	0,0110
B:BLOQUE	0,03	2	0,015	1,29	0,4375
RESIDUOS	0,0233333	2	0,0116667		
TOTAL (CORREGIDO)	1,095	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

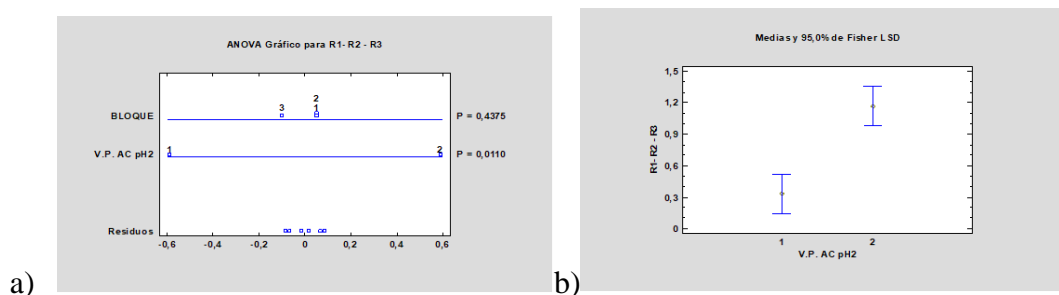


Figura 23. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AC pH2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH2.

Dentro los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza la hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados, se introduce el análisis de Pruebas de Múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 14. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH2.

**Pruebas de Múltiple Rangos para R1- R2 - R3 por V.P. AC pH2**

Método: 95,0 porcentaje LSD

V.P. AC pH2	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	3	0,333333	0,062361	X
2	3	1,16667	0,062361	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,833333	0,379458

\* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 15. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AC pH3

**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. AC pH3	1,04167	1	1,04167	625,00	0,0016
B:BLOQUE	0,00333333	2	0,00166667	1,00	0,5000
RESIDUOS	0,00333333	2	0,00166667		
TOTAL (CORREGIDO)	1,04833	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

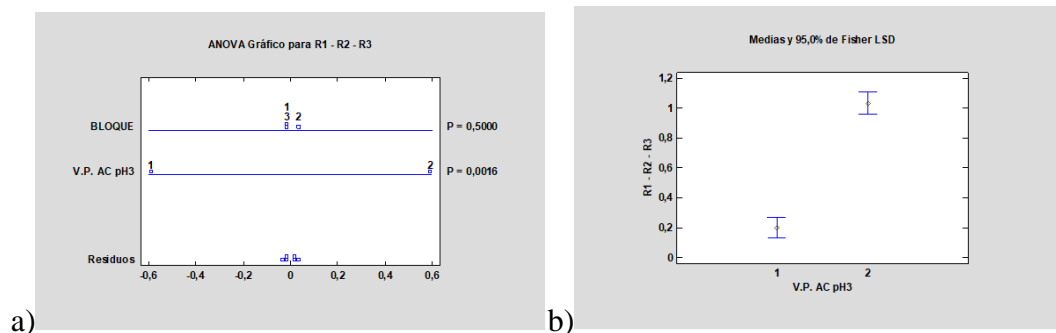


Figura 24. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AC pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH3.

Dentro los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza la hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa, debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados, se introduce el análisis de múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 16. Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AC pH3.

**Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V.P. AC pH3**

Método: 95,0 porcentaje LSD

V.P. AC pH3	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	3	0,2	0,0235702	x
2	3	1,03333	0,0235702	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,833333	0,143422

\* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 17. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AA pH2.  
**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V.P. AA pH2	0,375	1	0,375	25,00	0,0377
B:BLOQUE	0,03	2	0,015	1,00	0,5000
RESIDUOS	0,03	2	0,015		
TOTAL (CORREGIDO)	0,435	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

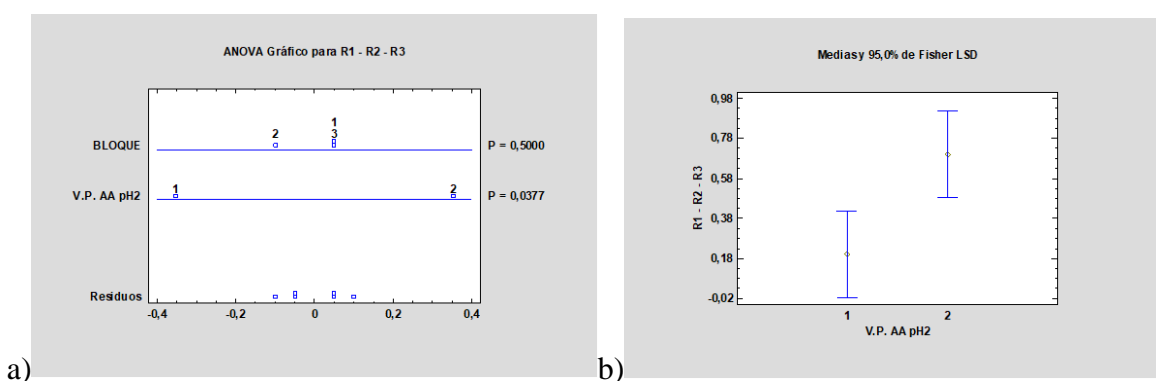


Figura 25. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AA pH2, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AA pH2.

Dentro los resultados obtenidos se determina que el valor  $p < 0,05$  es menor de lo aceptable por lo tanto se rechaza la hipótesis nula esta hipótesis corresponde a los resultados donde las medias de los grupos sean iguales o muy similares, y nos enfocamos en una hipótesis alternativa debido a que el porcentaje de hostilidad en los reportes experimentales muestran una gran diferencia dentro de los resultados en la suma de cuadrados, se introduce el análisis de múltiples rangos, esta prueba se realiza por pares de variables para determinar cuáles son los grupos diferentes.

Tabla 18. Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III AA pH3.

**Análisis de Varianza para R1 - R2 - R3 - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:V. P. AA pH3	0,015	1	0,015	0,43	0,5799
B:BLOQUE	0,303333	2	0,151667	4,33	0,1875
RESIDUOS	0,07	2	0,035		
TOTAL (CORREGIDO)	0,388333	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

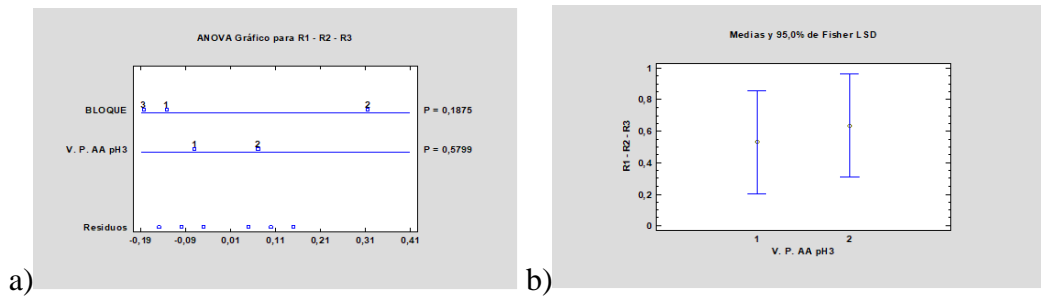
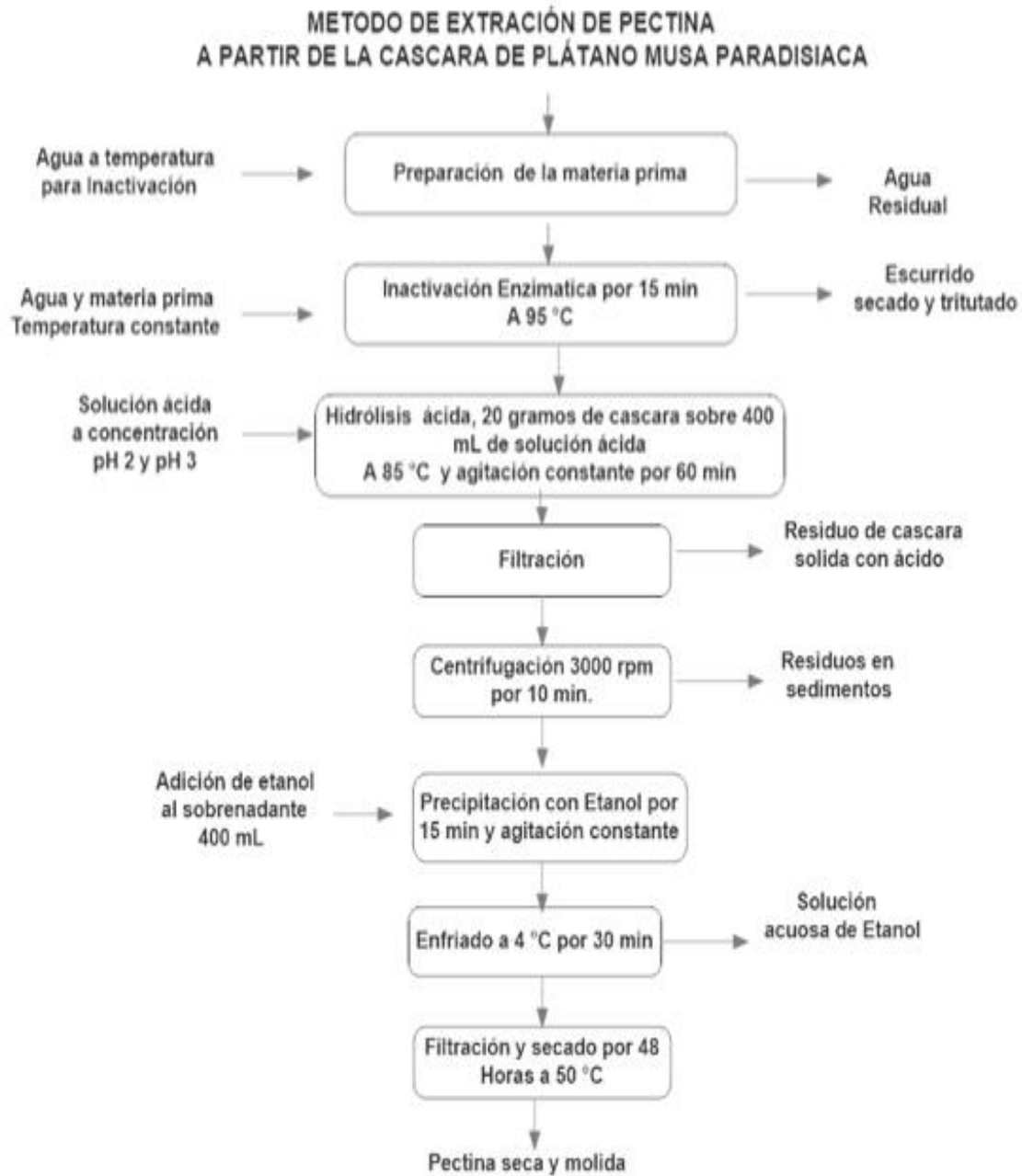


Figura 26. Gráficos estadísticos en programa ANOVA Statgraphy XVIII a) Análisis de Varianza AA pH3, b) Grafico Pruebas de Múltiple Rangos para R1 - R2 - R3 por V. P. AA pH3.

Según los resultados estadísticos reportados encontramos un valor por encima de  $p < 0,05$  mayor la cual nos da un porcentaje de confianza del 95% en la suma de los cuadrados semejantes en cada una de las solubilidades por titulación potenciométrica.

### 11.3. Diagrama de flujo de la extracción de pectina



Fuente: Autor