

Implementación de un método de extracción de pectina obtenida del subproducto agroindustrial cascarilla de cacao

Implementation of a method of extraction conditions of pectin obtained from agroindustrial by-product cocoa husks

Gloria E. Guerrero^{1*}, Diana L. Suárez², Diana M. Orozco³

Recibido para publicación: Septiembre 13 de 2016 - Aceptado para publicación: Abril 18 de 2017

RESUMEN

La pectina es un polisacárido con características hidrocoloidales, gelificantes y estabilizantes, usada ampliamente en la elaboración de productos cosméticos, alimenticios, farmacéuticos, entre otros. Considerando su importancia y aplicación industrial se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la cascarilla de cacao nacional (*Theobroma cacao* Linneo), como fuente de este polímero natural y las condiciones determinantes en su proceso de extracción. Se empleó cascarilla de cacao la cual corresponde a una mezcla de diferentes materiales (Criollo, Forastero y Trinitario) y se implementó un método de extracción por reflujo con ácido cítrico. Se realizaron ensayos preliminares donde se evaluaron diferentes tiempos (100, 95, 85 y 75 minutos) y temperaturas (95, 90, 80 y 70 °C). Se realizó un análisis de varianza con un diseño 22 con las condiciones con las que se obtuvo los mayores porcentajes de metoxilo y de ácido galacturónico. Según los resultados el rendimiento de extracción de pectina se incrementó proporcionalmente a los factores tiempo y temperatura, sin embargo, el porcentaje de metoxilo no presentó una gran variación ($2,65 \pm 0,16\%$ y $2,90 \pm 0,03\%$), caracterizándose como de bajo metoxilo. Las mejores condiciones de extracción de la pectina fueron a 70 °C y 95 con un rendimiento de 8,82 g de pectina por 100 g de cascarilla. La pectina obtenida presentó un alto grado de esterificación ($71,88 \pm 0,78\%$) y un contenido de $26,86\% \pm 0,86$ de ácido galacturónico. Esto indica que la cascarilla procedente de la industria chocolatera nacional puede ser considerada una alternativa para la obtención de pectina.

Palabras clave: Ácido galacturónico, cascarilla, hidrólisis, metoxilo, pectina, *Theobroma cacao* L.

ABSTRACT

Pectin is a polysaccharide with hydrocolloidal, gelling and stabilizing characteristics. It is widely used in the manufacture of cosmetics, food products, and pharmaceuticals, among others products. Taking into account this wide range of applications in several industries, this study sought to evaluate national cocoa husks (*Theobroma cacao* Linneo), a waste of difficult disposal, as a source of this natural polymer. The study also attempted to determine the best conditions for the extraction process. The cocoa husks are from a national industry and comprise different materials (Criollo, Forastero and Trinitario). A reflux extraction method using citric acid was implemented. Preliminary tests took different periods of time (100, 95, 85 and 75 minutes) and were conducted at different temperatures (95, 90, 80 and 70 °C). A test of variance was made using 22 design and employing the highest percentages of methoxyl and galacturonic acid. The pectin extraction yield increased proportionally with time and temperature. However, the percentage of methoxyl did not show an important variation ($2.65\% \pm 0.16$ and $2.90\% \pm 0.03$). The pectin obtained was characterized as one of low methoxyl pectin content. The best extraction temperature condition using a citric acid solution of pH 3 was 70 °C hold during 95 minutes. Under this condition a yield of 8.82 g pectin / 100 g cocoa husks was obtained, the esterification degree was $71.88\% \pm 0.78$, and the percentage of galacturonic acid was $26.86\% \pm 0.86$. These results show that the husks from the national cocoa industry can be included among the alternative sources to obtain pectin.

Key words: Galacturonic acid, husks, hydrolysis, methoxyl groups, pectin, *Theobroma cacao* L.

1* Gloria Edith Guerrero Álvarez. PhD Ciencias Químicas. Docente Investigador. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Tecnología Química. Grupo de Investigación Oleoquímica. Carrera 27 #10-02 Barrio Álamos. Risaralda, Colombia. Tel:(6)3137465 e-mail: gguerrero@utp.edu.co

2. Química Industrial. Investigadora. Facultad de Tecnologías. Escuela de Tecnología Química. Universidad Tecnológica de Pereira. Risaralda, Colombia. e-mail: dlsuarez@utp.edu.co

3. Química Industrial. Investigadora. Facultad de Tecnologías. Escuela de Tecnología Química. Universidad Tecnológica de Pereira. Risaralda, Colombia. e-mail: dimaorozco@utp.edu.co

INTRODUCCIÓN

Las pectinas son moléculas complejas formadas por polisacáridos, principalmente por unidades de ácido galacturónico, esterificados o no por grupos metoxilos. Las pectinas están clasificadas como de alto metoxilo y bajo metoxilo según su grado de esterificación, aportando propiedades y poder de gelificación diferentes a cada una de ellas. Las pectinas de altos metoxilos pueden formar geles en soluciones de sacarosa o sorbitol en concentraciones de 55-57% a pH 2,0-3,5, mientras que las de bajo metoxilo pueden gelificar en el rango de pH 2,0-6,0, en ausencia de concentraciones altas de sacarosa, pero con la adición de iones divalentes como el calcio (Canteri et al. 2012). Estas características han permitido utilizarla principalmente como agente gelificante y estabilizante en las industrias alimentaria y cosmética, además aprovecharla en la industria farmacéutica por sus propiedades hidrocoloidales, terapéuticas y de aumento en la acción de los principios activos, también nuevos usos en la industria del plástico en la fabricación de productos espumantes, como agentes de clarificación y aglutinantes (Barazarte et al. 2008, Sangoris et al. 2014), actualmente se sigue investigando nuevas alternativas de usos.

Industrialmente, las pectinas se extraen de las cáscaras de cítricos y manzana mediante un proceso físico-químico compuesto por varias etapas, inicia con una extracción mediante un mineral diluido, caliente y ácido, finaliza con la recuperación y purificación por precipitación con alcohol (Mollea et al. 2008). La extracción es un paso importante en la recuperación de las pectinas, de las condiciones aplicadas depende su calidad. Igualmente la composición química es afectada por la fuente vegetal de extracción (Vriesmann et al. 2011).

Debido a los múltiples beneficios de la pectina y sus aplicaciones en la industria, recientemente se han investigado fuentes no tradicionales para su extracción, siendo

una alternativa para convertir gran material de desecho de la industria alimentaria en un insumo que aporte un compuesto de alta funcionalidad en otras industrias (Schieber et al. 2011; Vriesmann et al. 2011).

Siendo Colombia un país de alta actividad agrícola, cuenta con las condiciones adecuadas para la siembra del cacao. El cacao colombiano corresponde en su mayoría a plantaciones híbridas de clones de las variedades trinitarias y forasteras, tal condición permite caracterizar el grano de cacao como fino de sabor y aroma (Useché et al. 2009). Actualmente cuenta con más de 41 empresas dedicadas a la producción de artículos cosméticos y alimenticios donde el cacao, es materia prima. Según la Superintendencia de Industria y Comercio en el 2011 cada una generó una demanda de hasta 54,8 toneladas de cacao por año. De esta manera, se produce un gran volumen de cascarilla de cacao (material obtenido a partir del descascarillado de las semilla de cacao) debido a que representa aproximadamente alrededor del 12% del peso de cada semilla y es de costosa disposición final (Sangoris et al. 2014). Aunque se ha aprovechado como compostaje y alimento para el ganado, en bebidas en infusión para prevenir enfermedades degenerativas, el alto contenido en teobromina la limita, siendo alternativas ineficientes, la cascarilla termina acumulándose, convirtiéndose en foco para la propagación de *Phytophthora spp*, causa principal de pérdidas económicas de la actividad cacaotera (Barazarte et al. 2008, Silva et al. 2008).

En otros países como Brasil se han encontrado otras alternativas de aprovechamiento de la cascarilla de cacao como la obtención de pectina con un rendimiento de 10 gramos, por cada 100 gramos de cascarilla (Vriesmann et al. 2012).

En el presente estudio se evaluó diferentes métodos de extracción de pectina a partir de cascarilla de cacao proveniente de la industria cacaotera colombiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó cascarilla de cacao compuesta por una mezcla de diferentes genotipos (Criollo, Forastero y Trinitario) suministrada por una industria chocolatera nacional. La muestra se molió en molino de cuchillas marca Black & Decker y el polvo obtenido de 0,1 mm de tamaño de partícula, se conservó a una temperatura de 4 °C en bolsas de polietileno de cierre hermético en el laboratorio de Oleoquímica de la Universidad Tecnológica de Pereira.

El polvo de cascarilla de cacao fue sometido a desengrase por método soxhlet, utilizando hexano como solvente y una relación muestra-solvente 1:10, por un tiempo de 12 horas (Baena y García 2012). Posteriormente se lavó con etanol en una relación 1:10 muestra-solvente, se centrifugó por 30 minutos a 2500 RPM y se secó en estufa (Cuellar 2010).

Se partió de una muestra de 10 g de polvo de cascarilla de cacao que se sometió a una hidrólisis ácida bajo reflujo a 2500 RPM con ácido cítrico a pH 3 conservando una relación 1:25 muestra-solvente, con base en la metodología descrita por otros autores (Vriesmann et al. 2012).

Los ensayos preliminares para la determinación de las condiciones de extracción se realizaron variando la temperatura (95, 90, 80 y 70 °C) y el tiempo (100, 95, 85 y 75 minutos). Finalizado el reflujo, cada extracto obtenido se sometió a centrifugación a 2500 RPM, se filtró y al hidrolizado se le trató con etanol absoluto para precipitar y separar los polisacáridos según metodología descrita por Vriesmann et al. (2012). Finalmente se realizó el secado de los polisacáridos por convección en estufa marca Binder a 40 °C por 12 horas.

Se estableció un diseño experimental en estructura factorial 2². Los factores se formaron completamente al azar y se evaluaron por triplicado. El primer factor correspondió a la temperatura de 70 °C y tiempo de 75 minutos, el segundo factor la temperatura de 70 °C y tiempo de 95 minutos, el tercer factor la temperatura de

90 °C y tiempo de 75 minutos y el cuarto a la temperatura de 90 °C y tiempo de 95 minutos.

El rendimiento de la pectina se determinó mediante la relación del peso de la pectina obtenida con el peso original del polvo de cascarilla de cacao. El porcentaje de metoxilo, el grado de esterificación y el contenido de ácido galacturónico se determinaron mediante valoración volumétrica con NaOH 0,1 N siguiendo la metodología descrita por Ranganna (1986).

Se realizó un análisis de varianza de dos factores empleando el software estadístico InfoStat versión libre 2008, con el cual se evaluaron los parámetros de extracción de pectina por hidrólisis ácida, con sus respectivas comparaciones de medias para los efectos principales (tiempo y temperatura) y su interacción. Se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro Wilk y homocedasticidad mediante la prueba de Levene.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos de la extracción de pectina por hidrólisis con ácido cítrico a pH 3, se encontró un rendimiento máximo de pectina de 25,92%±1,4 a una temperatura de 95 °C y un tiempo de 100 minutos, tendencia también reportada en el estudio realizado por Vriesmann et al. (2012). Por otro lado, Barazarte et al. (2008), atribuyeron los altos rendimientos de la pectina extraída a la temperatura de 90 °C (máxima evaluada) debido al aumento en el rompimiento de los enlaces glucosídicos presentes en la protopectina. Adicionalmente, con el cambio de tiempo y temperatura se observaron cambios en el color y la textura de la pectina extraída.

No se evidenció una influencia en los porcentajes de metoxilos encontrados por la variación en las condiciones de extracción de la pectina en los ensayos preliminares. Todos los ensayos estuvieron entre 2,65%±0,16 y 2,90%±0,03 (Tabla 1), valores que corresponden a pectinas de bajo metoxilo que se caracterizan por un grado de metilación menor a 7,0% (Barazarte et al. 2008).

Tabla 1. Análisis de varianza de dos factores para las características químicas en las condiciones de extracción de pectina de la cascarilla de cacao *Theobroma cacao* L.

Fuentes de variación	Variables	Cuadrados Medios	F	Sig.
Temperatura (°C)	Rendimiento (%m/m)	0,13	0,03	0,00
	Metoxilo (%)	1,17	130,94	0,00
	Grado de Esterificación (%)	48,76	27,52	0,00
	Ácido Galacturónico (%)	111,69	253,66	0,00
Tiempo (minutos)	Rendimiento (%m/m)	4,16	10,49	0,01
	Metoxilo (%)	0,41	45,48	0,00
	Grado de Esterificación (%)	13,04	7,36	0,03
	Ácido Galacturónico (%)	31,14	70,72	0,00
Tiempo* Temperatura	Rendimiento (%m/m)	33,10	83,39	0,00
	Metoxilo (%)	0,05	5,81	0,04
	Grado de Esterificación (%)	211,26	119,24	0,00
	Ácido Galacturónico (%)	6,62	15,03	0,01
Error	Rendimiento (%m/m)	0,40		
	Metoxilo (%)	0,01		
	Grado de Esterificación (%)	1,77		
	Ácido Galacturónico (%)	0,44		

El ácido galacturónico es un referente que permite visualizar el grado de pureza de la sustancia pectínica, debido a que este polisacárido debe encontrarse constituido en su mayoría por ácido galacturónico en presencia de otros azúcares (Ranganna 1986). En los ensayos preliminares el mayor porcentaje de ácido galacturónico se obtuvo con los parámetros de extracción de 70 °C y 75 minutos (25,12%±0,62) (Tabla 1); además la pectina obtenida presentó una tonalidad más clara y textura menos laminosa. Con base en estos resultados se seleccionaron las anteriores condiciones de extracción y las reportadas por Vriesmann et al. (2012) para ser aplicadas en el diseño de varianza de dos factores.

Como se aprecia en la tabla 1, los factores tiempo, temperatura y la interacción tiempo-temperatura, ejercieron un efecto significativo ($p < 0,05$) para todas las variables de respuesta (rendimiento, porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y ácido galacturónico).

En la tabla 2, se presentan los resultados de la evaluación de las características químicas de la pectina extraída de cascarilla de cacao

nacional. Según los resultados, los parámetros el mayor contenido de ácido galacturónico (26,86%±0,86) fueron: temperatura de 70 °C y tiempo de extracción de 95 minutos. Otros estudios realizados con métodos de extracción similares reportaron porcentajes mayores de ácido galacturónico (Vriesmann et al. 2012, Marsiglia et al. 2016), esto podría deberse principalmente al tipo de cascarilla de cacao empleada.

Tabla 1. Comparación de tiempos y niveles de temperatura en las variables de rendimiento, metoxilo, grado de esterificación y ácido galacturónico.

Temperatura (°C)	Tiempo (Min)	
	75	95
Rendimiento (%m/m)		
70	10,97 ± 1,01	8,83±0,71 *
90	7,71 ± 0,19	12,21±0,17 **
Metoxilo (%)		
70	2,90 ± 0,04	3,40±0,08 **
90	2,41 ± 0,04	2,65±0,06 ns
Grado de Esterificación		
70	65,58 ± 0,54	71,88±0,78 **
90	78,00 ± 0,65	67,52±0,47 **
Ac. Galacturónico (%)		
70	25,12±0,25	26,86±0,86 *
90	17,53±0,31	22,24±0,92 **

Promedios (± desviación estándar)
 *: Efectos significativos entre 75 y 95 minutos al 5% ($p \leq 0,05$);
 **: Efectos significativos al 1% ($p \leq 0,01$); ns: Efectos no significativos ($p > 0,05$)

Como se aprecia en la tabla 2, el mejor porcentaje de metoxilación ($3,4\pm 0,08\%$) se logró con las mismas condiciones de extracción clasificando la pectina como bajo metoxilo, al igual que las pectinas obtenidas por Vrismann et al. (2012) y Marsiglia et al. (2016) en similares condiciones de extracción.

Se ha reportado en estudios de otros autores que las pectinas de cascarilla de cacao son influenciadas por el pH en las condiciones de extracción, siendo de bajo metoxilo cuando se realiza a pH ácidos, esto debido probablemente a que la extracción en ácido caliente causa desmetilación y la fragmentación de la cadena del ácido poligalacturónico (Mollea et al. 2008).

En cuanto al grado de esterificación, se logró obtener una pectina con $71,88\pm 0,65\%$ (Tabla 2) a las condiciones de extracción a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 95 minutos. Este valor es superior al reportado por otros autores en condiciones similares de extracción (Vrismann et al. 2012 y Marsiglia et al. 2016). Sin embargo el valor obtenido es alto para una pectina de bajo metoxilo; puesto que según Axelos y Thibault (1991) se espera un grado de esterificación menor a 50% en este tipo de pectinas. El alto grado de esterificación podría atribuirse a que los grupos carboxilo pertenecientes a la cadena principal de ácido galacturónico, no solo se esterificaron con grupos metoxilos, sino con otros grupos capaces de promover la adición de grupos metilo, tales como grupos acetilo, afectando la formación del gel (Canteri et al. 2012).

Finalmente, el mayor rendimiento obtenido de pectina fue $12,21\pm 0,17\%$ a las condiciones $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 95 minutos (Tabla 2). Este es un valor superior al reportado por otros estudios en condiciones de extracción similares (Vrismann et al. 2012, Marsiglia et al. 2016).

Considerando que la pectina con los mayores valores de porcentaje de metoxilo y ácido galacturónico se obtuvo a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 95 minutos,

condiciones bajo las cuales se alcanzó un rendimiento de pectina de $8,82\pm 0,71\%$ que no fue el mayor pero está dentro del rango reportado por otros autores que emplearon condiciones similares de extracción (Vrismann et al. 2012, Marsiglia et al. 2016); se seleccionaron estas condiciones como las mejores para la extracción de pectina de la cascarilla de cacao estudiada.

CONCLUSIÓN

Se logró establecer un método de extracción de pectina de la cascarilla de cacao de procedencia nacional, que permitieron obtener pectina de bajo metoxilo y alto grado de esterificación con potenciales usos industriales, sin embargo se sugiere ampliar estudios en la caracterización de la estructura péctica y evaluar sus características reológicas así como las condiciones adecuadas de gelificación.

REFERENCIAS

- Axelos, A. y Thibault, F. 1991.** The chemistry of low-methoxyl pectin gelation. The chemistry and technology of pectin. 6:109-108.
- Baena, M. y García, N. 2012.** Obtención y caracterización de fibra dietaria a partir de cascarilla de las semillas tostadas de *Theobroma Cacao* L. de una industria chocolatera colombiana. Química Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia.
- Barazarte, H., Sangronis, E. y Unai, E. 2008.** La cáscara de cacao (*Theobroma Cacao* L.): una posible fuente comercial de pectinas. Archivos Latinoamericanos de nutrición. 58(1):64.
- Canteri, M., Moreno, L. y Wosiacki, G. 2012.** Pectina: da matéria-prima a produto final. Polímeros. 22(2):149-157.

- Cuellar, O. 2010.** Obtención del extracto polar etanol: agua (1:1) de la cáscara de cacao y evaluación de su actividad antibacteriana. Investigación. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia.
- Marsiglia, D., Ojeda, K., Ramirez, M. y Sánchez, E. 2016.** Pectin extraction from cocoa pod husk (*Theobroma Cacao* L.) by hydrolysis with citric and acetic acid. International Journal of Chem Tech Research. 9(7):497-507.
- Mollea, C., Chiampo, F. and Conti, R. 2008.** Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. °Food Chemistry. 107(3):1353-1356.
- Ranganna, S. 1986.** Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. (2Ed). Tata McGraw-Hill Education. p 32-34.
- Sangoris, E., Soto, M., Valero, y Bucema, I. 2014.** Cascarilla de cacao Venezolano como materia prima de infusiones. Archivos norteamericano de nutrición. Caracas, Venezuela. 64(2):123-130.
- Schieber, A., Stintzing, F. and Carle, R. 2001.** By-products of plant food processing as a source of functional compounds recent developments. Trends in Food Science & Technology. 12(11):401-413.
- Silva, N., Benites, E. y Gomero, J. 2008.** Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. °Ingeniería Industrial. 26:175-199.
- Superintendencia de Industria y Comercio. 2011.** Cadena productiva del cacao: diagnóstico de libre competencia. Bogotá: Superintendencia de Industria y Comercio.
- Useché, J., Jacobo, A., Agudelo, J., Mendez, J., Rojas, F., Ramirez, O., et al. 2009.** El reto es por la productividad. °Colombia Cacaotera. Bogotá, Colombia.4:8-9.
- Vriesmann, L., Teófilo, R. and De Oliveira, C. 2011.** Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma Cacao* L.) using response surface methodology. °Carbohydrate Polymers. 84(4):1230-1236.
- Vriesmann, L., Teófilo, R. and De Oliveira, C. 2012.** Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma Cacao* L.) With citric acid. Food Science and Technology. 49(1):108-116.