

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**



**FACULTAD DE INGENIERIA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**Extracción y caracterización de pectina, a partir de la pulpa del  
níspero de palo (*Mespilus germánica* L.)**

**Bach. Julio Cesar RONDAN RETAMOSO**

**Abancay, diciembre del 2010**

**PERÚ**

UNIVERSIDAD NACIONAL MIKAELA BASTIDAS DE APURIMAC	
CÓDIGO	MEN
T 1A5 R 2010	BIBLIOTECA CENTRAL
FECHA DE INGRESO:	28 MAR 2012
Nº DE INGRESO:	00225

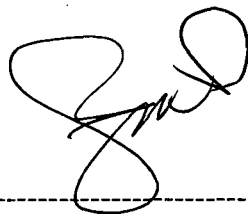
**Extracción y caracterización de pectina, a partir  
de la pulpa del níspero de palo  
(*Mespilus germánica* L.)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC**

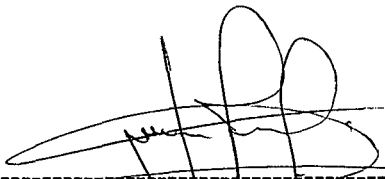
**FACULTAD DE INGENIERIA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

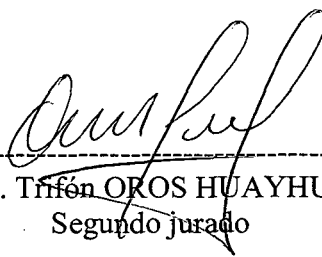
Miembros del jurado:



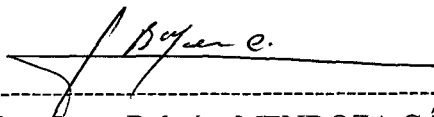
-----  
Ing. M.C. Fulgencio VILCANQUI PEREZ  
Presidente



-----  
Ing. Didi Juan FLORES CRUZ  
Primer jurado



-----  
Blgo. Trifón OROS HUAYHUA  
Segundo jurado



-----  
Ing. Jorge Beltrán MENDOZA CÁCERES  
Asesor

## **DEDICATORIA**

A mis padres Alejo y Gaby por  
brindarme todo su apoyo y guiar mis  
pasos en el camino hacia mi vida  
profesional.

A la mujer que amo Mary Luz y  
a mi hijo Julio Alejandro, quienes  
llegaron a mi vida para fortalecer  
mis objetivos y concretizar nuestro  
éxito familiar.

A todas las personas que me brindaron  
su respaldo para afrontar las situaciones  
más adversas y lograr consolidar una  
gran profesión.

Julio Cesar RONDAN RETAMOSO.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac  
alma mater de mi formación profesional por acogerme  
en sus aulas y permitirme el acceso a nuevos  
conocimientos para llegar a ser un  
destacado profesional.

A mis Maestros de la Escuela Académico Profesional  
de Ingeniería Agroindustrial, quienes siempre  
supieron responder a mis interrogantes  
dentro y fuera de las aulas universitarias.

A mi asesor Ing. Jorge Beltran Mendoza de vastos  
conocimientos en análisis y tecnología de alimentos  
por su apoyo y orientación brindada  
para el presente trabajo.

Julio Cesar RONDAN RETAMOSO.

## INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
<b>I. OBJETIVOS</b> .....	4
1.1. Objetivo general .....	4
1.2. Objetivos específicos.....	4
<b>II. MARCO REFERENCIAL</b> .....	5
2.1. Antecedentes de la investigación .....	5
2.2. Marco teórico .....	7
2.2.1. Níspero de palo ( <i>Mespilus germánica L.</i> ) .....	7
2.2.1.1. Origen.....	7
2.2.1.2. Taxonomía y botánica .....	7
2.2.1.3. Descripción botánica .....	8
2.3. Marco conceptual .....	13
2.3.1. Fibra dietética.....	13
2.3.1.1. Clasificación de la fibra dietética .....	14
2.3.1.2. Compuestos asociados a la fibra .....	18
2.3.1.3. Efectos fisiológicos de la fibra .....	19
2.3.2. Pectina .....	21
2.3.3. Pardeamiento enzimático .....	26
2.3.4. Operaciones unitarias .....	26

	Pág.
2.3.5. Propiedades fisicoquímica de la pectina .....	26
2.3.5.1. Grado de metoxilación. ....	26
2.3.5.2. Acido galacturónico.....	27
2.3.5.3. Grados SAG.....	27
2.3.6. Propiedades funcionales de la fibra. ....	28
2.3.6.1. Capacidad de retención de agua (CRA). ....	29
2.3.6.2. Capacidad de adsorción de aceite (CAG).....	29
2.3.6.3. Capacidad de hinchamiento(CH). ....	29
2.3.6.4. Capacidad de adsorción y absorción de agua (CA <sub>d</sub> y CA <sub>b</sub> ) . ....	30
2.4. Propiedades químicas de la pectina. ....	30
2.5. Clasificación de la pectina. ....	32
2.5.1. Pectinas de alto metoxilo (HM) .....	32
2.5.2. Pectinas de bajo metoxilo (LM) .....	40
2.6. Métodos para la medición de la graduación de la pectina. ....	41
2.7. Empleo de la pectina y su aplicación en la industria alimentaria. ....	43
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
3.1. Materiales. ....	44
3.1.1. Equipos de laboratorio. ....	44
3.1.2. Materiales de laboratorio.....	44
3.1.3. Reactivos y medios de cultivo.....	45
3.1.4. Insumos. ....	45
3.2. Métodos. ....	46
3.2.1. Recolección y transporte de la materia prima. ....	46



	Pág.
3.2.2. Preparación de la muestra.....	46
3.2.3. Análisis fisicoquímico de los frutos de níspero. ....	46
3.2.3.1. Determinación de grados Brix.....	46
3.2.3.2. Acidez titulable .....	47
3.2.3.3. Determinación del índice de madurez.....	47
3.2.3.4. Determinación de pH .....	48
3.2.3.5. Determinación de porcentaje de humedad .....	48
3.2.3.6. Determinación de azúcares reductores.....	49
3.2.3.7. Determinación de azúcares totales .....	51
3.2.4. Análisis microbiológico de los frutos de níspero. ....	52
3.2.4.1. Determinación de mohos y levaduras .....	52
3.2.4.2. Determinación de aerobios mesofilos .....	52
3.2.4.3. Determinación de coliformes .....	52
3.2.5. Obtención de la pectina de la pulpa del níspero de palo. ....	53
3.2.6. Determinación del rendimiento de pectina.....	59
3.2.7. Caracterización fisicoquímica y funcional de la pectina.....	59
3.2.7.1. Porsentaje de metoxilos.....	59
3.2.7.2. Contenido de acido anhidro galacturónico (%AGA) .....	59
3.2.7.3. Grado de gelificación .....	60
3.2.7.4. Capacidad de absorción de agua (CAA) .....	60
3.2.7.5. Capacidad de adsorción de aceite (CAG) .....	61
3.2.7.6. Capacidad de hinchamiento (CH) .....	61

	Pág.
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	62
4.1. Análisis químico proximal de la materia prima ( <i>Mespilus germanica</i> L.).....	62
4.2. Análisis microbiológico de la materia prima ( <i>Mespilus germanica</i> L.).....	62
4.3. Rendimiento de la extracción de pectina del níspero de palo .....	64
4.4. Caracterización fisicoquímica de la pectina del níspero de palo .....	68
4.5. Caracteización funcional de la pectina del níspero de palo .....	75
<b>V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	82
5.1. Conclusiones .....	82
5.2. Recomendaciones .....	84
<b>VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	85
ANEXOS.....	91
Anexo 1. Análisis de varianza (ANVA) del trabajo de investigación .....	92
Anexo 2. Métodos de análisis microbiológico .....	93
Anexo 3. Fotografías.....	96

## INDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Composición del fruto del níspero de palo ( <i>Mespilus germanica</i> L.).....	10
2. Producción nacional y regional del níspero de palo.....	11
3. Producción, superficie cosechada y precios del níspero de palo.....	12
4. Solubilidad y fermentabilidad de las fibras.....	18
5. Acciones de los componentes de la fibra en el organismo.....	20
6. Polisacáridos de uso alimentario, hidrosolubles, distintos del almidón.....	25
7. Rendimiento y propiedades fisicoquímicas de pectina de diferentes productos .....	27
8. Propiedades funcionales de diferentes alimentos .....	28
9. Diseño estadístico factorial 3 <sup>3</sup> para el presente trabajo de investigación .....	57
10. Resultados del análisis químico proximal del níspero de palo.....	62
11. Resultados del análisis microbiológico del níspero de palo.....	62
12. Resultados de la extracción de pectina del níspero de palo .....	64
13. Análisis de Varianza (ANOVA) para el rendimiento .....	67
14. Resultados de la caracterización fisicoquímica de la pectina .....	68
15. Análisis de Varianza (ANOVA) para porcentaje de metoxilos (% metoxilos).....	72
16. Análisis de Varianza (ANOVA) para porcentaje de ácido galacturónico (%AGA).....	73
17. Análisis de Varianza (ANOVA) para grado de gelificación.....	74
18. Resultados de la caracterización funcional de la pectina .....	75
19. Análisis de Varianza (ANOVA) para capacidad de absorción de agua (CAA).....	79
20. Análisis de Varianza (ANOVA) para capacidad de adsorción de aceite (CAG).....	80
21. Análisis de Varianza (ANOVA) para capacidad de hinchamiento (CH).....	81

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
1. Frutos del níspero de palo ( <i>Mespilus germanica</i> L.).....	7
2. Estructura poligalacturonano de la pectina .....	21
3. Intervalos de temperatura y pH a los que gelifican pectinas HM .....	34
4. Curva de equilibrio en la consistencia del gel de la pectina.....	35
5. Condiciones de gelificación de las pectinas de alto metoxilo.....	36
6. Equilibrio de los ingredientes para lograr la gelificación.....	38
7. Diagrama de flujo para la obtención de pectina de níspero de palo.....	53
8. Diagrama de flujo de la operación de hidrólisis y evaluación de la pectina .....	56
9. Rendimiento de la extracción de pectina de níspero comparada con otros productos .....	65
10. Porcentaje de metoxilos de pectina del níspero comparada con otros productos .....	69
11. Porcentaje de ácido galacturónico de la pectina comparada con otros productos.....	70
12. Capacidad de absorción de agua de la pectina comparada con otros productos .....	76
13. Capacidad de absorción de agua de pectina comparada con otros productos .....	77
14. Diagrama de flujo para la determinación de mohos y levaduras .....	93
15. Diagrama de flujo para la determinación de aerobios mesófilos .....	94
16. Diagrama de flujo para la determinación de coliformes .....	95

## ABREVIATURAS

CAA	capacidad de absorción de agua	g	gravedad
CRA	capacidad de retención de agua	h	horas
CAG	capacidad de adsorción de aceite	Kg	kilogramo
CH	capacidad de hinchamiento	μm	micrómetro
CV	coeficiente de variabilidad	M.S.	materia seca
%AGA	porcentaje ácido galacturónico	meq	miliequivalente
HM	pectina de alto metoxilo	mg	miligramos
LM	pectina de bajo metoxilo	ml	mililitros
°SAG	grados SAG	mm	milímetros
Ha	hectáreas	n.d.	no determinado
L	litro	min	minutos
N	normalidad	pH	potencial de hidrogeno
Ton	toneladas	p/v	relación peso volumen
b.s.	base seca	rpm	revoluciones por minuto
b.h.	base húmeda	ufc	unidades formadoras de colonia
g	gramos	v/v	relación volumen/volumen

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue realizar la extracción y caracterización fisicoquímica y funcional de la pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), procedente de la provincia de Andahuaylas Región de Apurímac (Perú).

Se utilizó el método de hidrólisis ácida con  $H_2SO_4$  0.1N para la operación de hidrólisis, utilizando el diseño factorial de  $3^3$  generándose 27 tratamientos con tres repeticiones. Las variables del proceso de extracción fueron: pH (1.5, 2.5 y 3.5), temperatura de (65, 75 y 86°C) y tiempo de hidrólisis de (30, 40 y 50min).

La materia prima (níspero de palo) se sometió al análisis químico proximal y se obtuvo: 72.68 % de humedad, pH 3.50, acidez titulable 0.76 %, azúcares reductores 4.2 %, azúcares totales 13.86 %, °Brix 5.3, e índice de madurez de 6.97. El análisis microbiológico tuvo como resultados: mohos y levaduras en  $5.4 \times 10^3$  ufc/ml, aerobios mesófilos en  $4.2 \times 10^3$  ufc/ml y ausencia de coliformes.

Sobre la pectina extraída se caracterizó las propiedades fisicoquímicas y funcionales, el rendimiento óptimo de extracción fue de 19.84% expresado en base húmeda (b.h.). La caracterización fisicoquímica de la pectina del níspero tuvo como resultados: porcentaje de metoxilos de 5.52% (pectina de bajo metoxilo), porcentaje de ácido galacturónico (%AGA) de 74.24% y 65°SAG. Por otro lado la caracterización funcional de la pectina del níspero de palo tuvo como resultados: capacidad de absorción de agua (CAA) de 3.89g de agua/g de pectina, capacidad de adsorción de aceite (CAG) de 1.72g de aceite/g de pectina y capacidad de hinchamiento (CH) de 4.55 ml/g de pectina.

En el trabajo de investigación se obtuvo parámetros óptimos para el rendimiento, propiedades fisicoquímicas y funcionales de la pectina, utilizando en método de hidrólisis ácida a condiciones de: pH 2.5; temperatura de 65°C durante 50min de hidrólisis.

**Palabras claves:** Pectina, ácido galacturónico, metoxilos, níspero de palo.

## ABSTRACT

The objective of this research was to perform the physical removal and chemical and functional characterization of pectin stick loquat (*Mespilus germanica* L.), from the province of Andahuaylas Region of Apurímac (Perú).

We used the method of acid hydrolysis with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N for hydrolysis operation, using the factorial design of 3<sup>3</sup> generating 27 treatments with three replicates. The extraction process variables were: pH (1.5, 2.5 and 3.5), temperature (65, 75 and 86 °C) and hydrolysis time (30, 40 and 50min).

The raw material (stick loquat) was subjected to proximate analysis was obtained: 72.68% moisture, pH 3.50, acidity 0.76%, reducing sugars 4.2%, total sugar 13.86%, °Brix 5.3, and maturity index 6.97. The microbiological analysis resulted in: molds and yeasts in 5.4x10<sup>3</sup>ufc/ml, aerobic mesophiles in 4.2x10<sup>3</sup>ufc/ml and absence of coliforms.

On pectin were characterized physicochemical and functional properties. The optimum extraction was 19.84% on wet basis (b.h.). The physicochemical characterization of pectin medlar resulted in: methoxyl rate of 5.52% (low methoxyl pectin), percentage of galacturonic acid (% AGA) of 74.24% and 65 °SAG. On the other hand, the functional characterization of pectin stick medlar resulted in: water absorption capacity (CAA) of 3.89g water/ g of pectin, oil adsorption capacity (CAG) 1.72g of oil / g pectin and swelling capacity (CH) of 4.55 ml / g of pectin.

In the research work was obtained optimal parameters for performance, physicochemical and functional properties of pectin, used in acid hydrolysis conditions: pH 2.5, temperature 65 °C during 50 min of hydrolysis.

**Key words:** Pectin, galacturonic acid, methoxyl, medlar stick.

## INTRODUCCIÓN

La Región de Apurímac cuenta con una abundante producción de níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), siendo el registro de producción para el año 2009 de 122 toneladas, del que se pierde un 55% por deterioro y malas prácticas pos cosecha.

Las pectinas son heteropolisacáridos que se presentan en la naturaleza como elementos estructurales del sistema celular de las plantas. Su componente principal es el ácido galacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol. Se encuentra principalmente en los frutos y partes vegetativas, cumple la función de balancear el equilibrio de agua dentro del sistema. La pectina se emplea en la industria de los alimentos para hacer gelatinas, helados, salsas, quesos. También se emplean en otras industrias como la farmacéutica para modificar la viscosidad de sus productos y en la industria de los plásticos así como en la fabricación de productos espumantes como agentes de clarificación y aglutinantes.

El Perú, no produce pectina ni sus derivados, por lo que se importa para cubrir la demanda interna de las diferentes industrias, específicamente la industria de alimentos, frente a esta situación surge la alternativa de obtener pectina a partir de la variedad de níspero de palo (*Mespilus germánica* L.) que crece en la región.

Esta investigación propone aprovechar el níspero de palo para la extracción y caracterización fisicoquímica y funcional de pectina. Los beneficiarios con la investigación son las personas dedicadas a la siembra y cosecha del níspero y todas las pequeñas y medianas empresas que requieren de pectina para el procesamiento de productos Agroindustriales (helados, salsas, productos espumantes etc).



## I. OBJETIVOS

### 1.1. Objetivo general

- Evaluar e identificar los parámetros de extracción de pectina a partir de la pulpa del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), en función a las características fisicoquímicas y funcionales.

### 1.2. Objetivos específicos

- Realizar el análisis químico proximal y microbiológico del fruto del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), materia prima utilizada en la tesis.
- Evaluar e identificar los parámetros de extracción (pH, temperatura y tiempo de hidrolisis) en función al rendimiento de la pectina de la pulpa del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.).
- Evaluar e identificar los parámetros de extracción (pH, temperatura y tiempo de hidrolisis) en función a las propiedades fisicoquímicas de la pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.).
- Evaluar e identificar los parámetros de extracción (pH, temperatura y tiempo de hidrolisis) en función a las propiedades funcionales de la pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.).

## II. MARCO REFERENCIAL

### 2.1. Antecedentes de la investigación

Estudios realizados por Gomez (1998), revelan métodos de extracción de pectina a partir de la cascara de naranja valencia, en las cuales se utilizaron dos métodos de extracción en medio acuoso con y sin ácido, se obtiene mejores rendimientos y una pectina de alto índice de metoxilo con el método de extracción en medio ácido. Por su parte, Ramírez (2009), realizó estudios en la “Extracción de pectina de membrillo (*Cydonia oblonga* Mill), funcionalidad como agente emulsificante y estabilizante de emulsiones aceite en agua”. Además se investigó el rendimiento, la composición química proximal e índice de metoxilo de pectina extraída de membrillo; así como su utilidad sola y en combinación con proteínas de lactosuero, para la formación y estabilización de emulsiones aceite-agua. La pectina, extraída con ácido clorhídrico, y precipitada con etanol, presentó un contenido de proteína del 0.5 % y un grado de metoxilo de 59 %, (pectina de alto metoxilo). La combinación de mezcla de pectina de membrillo y proteína de lactosuero produjo emulsiones aceite-agua estable; mientras que la pectina de membrillo sola produjo emulsiones aceite-agua inestables.

Tamayo y Bermúdez (2002), estudiaron los residuos vegetales de la industria de jugo de naranja como fuente de fibra dietética, sobre el cual se evaluaron las propiedades funcionales expresadas en capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y capacidad de adsorción de aceite. Los estudios se efectuaron sobre residuos de fibras lavadas y deshidratadas. Por su parte Baquero y Bermúdez (2002), estudió los mismos parámetros funcionales teniendo como materia prima los residuos vegetales (cáscara) de la industria del jugo de maracuyá como fuente de fibra dietética.

Villarroel *et al.* (2003), estudió las propiedades funcionales de la fibra del musgo *Sphagnum magellanicum* y su utilización en la formulación de productos de panadería, en el que tuvo como variables de respuesta a la capacidad de absorción (CAA) y retención de agua (CRA), capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO), capacidad de hinchamiento (CH) y capacidad e intercambio catiónico (CIC), todos ellos en función al tamaño de partículas para medir su efecto sobre estas propiedades.

Zambrano *et al.* (2002), caracterizó fisicoquímicamente el contenido de fibra dietética total, fibras solubles y fibras insolubles; además de estudiar las propiedades funcionales tales como: capacidad de absorción, capacidad de retención de agua, capacidad de absorción de moléculas orgánicas y capacidad de intercambio catiónico, teniendo como patrón comparativo a la cascarilla de arroz.

Vilcanqui (2009), estudio las propiedades funcionales de la fibra de *Agave tequilana* Weber, las propiedades funcionales de la fibra, evaluado por métodos físicos tal como la capacidad de absorción de agua (CAA), capacidad de retención de agua (CRA) y la capacidad de adsorción del aceite (CAG). También evaluó las propiedades funcionales a través de ensayos biológicos mediante la inclusión de la fibra en proporciones de 5 y 10% en la dieta de los animales de experimentación cuyas variables de respuesta fueron el peso y el volumen de las heces fecales, la cantidad de grasa retenida y el tiempo de tránsito intestinal.

## 2.2. Marco Teórico

### 2.2.1. Níspero de palo (*Mespilus germanica* L.)

**2.2.1.1. Origen.** El níspero es un frutal de porte regular, conocido también como nispero, níspero europeo o níspero del monte. Es una planta de origen europeo, según las fuentes proviene del sur de Europa (Sueldo, 1984).

**2.2.1.2. Taxonomía y botánica.** La muestra se clasificó por el Museo de Historia Natural, según el sistema de clasificación siguiente (Cronquist, 1988).

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Género: *Mespilus*

Especie: *Mespilus germanica* L.

En el Perú se conoce con los nombres de níspero, níspero de palo, níspero del monte y nispero (Palomino, 2000).



**Figura 1.** Frutos del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.)

### 2.2.1.3. Descripción botánica

El níspero de palo es una planta frutal de la familia de las rosáceas, es un árbol que generalmente alcanza de 3 a 5 metros de altura. Es una planta resistente, no es afectada por el granizo: es inmune a las plagas. El tallo llega a tener un diámetro de 30 cm. como máximo. Tiene raíces largas, nudosas, muy ramificadas y poco profundas. El tronco mayormente no es recto, posee muchas ramas tortuosas pero ordenadas. El tallo en la etapa inmadura presenta espinas que desaparecen en su etapa de madurez. La corteza de las ramas es lisa y blanquecina, la de las ramas más viejas son lisas y brillantes de color gris. Las hojas son enteras, ovaladas, aserradas y terminan en punta (Tamaro, 1986).

El fruto en pomo es casi redondo, cubierto de tomentos cuando esta joven, globoso y de color canela cargado: lleva casi siempre en la base dos bracteolas. Termina en una especie de corona de cinco hojas estrechas y las divisiones del cáliz encierra cinco semillas (Tamaro, 1986).

La flor es grande, blanca, con cáliz erizado de cinco divisiones: los pétalos son grandes, semiredondos salpicados de color rojo. Es la parte que se asemeja al níspero japonés.

La pulpa del níspero de palo, aún en maduración completa natural, es dura y tiene un sabor ligeramente astringente. Pero conservados entre la paja sufren una fermentación, toman un color anaranjado intenso y se ablanda la pulpa que adquiere una consistencia de miel y sabor azucarado ácido y agradable. En tal estado es óptimo para ser comestible (Tamaro, 1986).

#### **2.2.1.4. Variedades**

Las principales variedades son las siguientes (Palomino, 2000):

- Níspero temprano: esta variedad es de buen fruto, cascara de mediano grosor.
- Níspero de fruto grueso: fruto redondo, alcanza hasta 6 cm. de diámetro. Es la mejor variedad y la más cultivada.
- Níspero de fruto largo: fruto de forma oval y cascara de grosor mediano.
- Níspero de fruto sin semilla: fruto de mediana calidad y pequeña.

#### **2.2.1.5. Composición química**

El fruto de níspero tiene sabor ligeramente ácido-dulce, algunas variedades tienen un sabor parecido al de la manzana. Dentro de los componentes mayoritarios se encuentran los azúcares, que es el principal componente de la pulpa. También se reporta la presencia de ácido cítrico, tartárico y succínico. La glucosa, fructosa, maltosa y sucrosa se forman durante la maduración, todos estos azúcares se incrementan a medida que el fruto madura, excepto la maltosa que se encuentra en pequeñas cantidades y desaparece cuando el fruto está completamente maduro (Vargas y Pisfil, 2008). El ácido málico representa casi el 83 % del ácido total presente, seguido el ácido cítrico, también se encuentra en trazas el ácido tartárico fundamentalmente en frutas verdes, desaparece en frutos maduros (Cavero, 1990). Los ácidos desempeñan un rol importante en la vida de las frutas, siendo un factor de resistencia contra los hongos y también determinan las características organolépticas y nutricionales (ácido ascórbico). De los estudios realizados sobre la composición química de la pulpa del níspero, existen determinaciones de los azúcares, proteínas y algunas vitaminas (Vargas y Pisfil, 2008). En la tabla 1 se muestra la composición del níspero de palo.

**Tabla 1.** Composición del fruto del níspero de palo (*Mespilus germanica L.*)

Descripción	Muestra fresca	Muestra seca
Humedad (%)	73.13	—
pH	4.07	—
Proteínas (%)	0.57	2.12
Grasas (%)	0.41	1.53
Carbohidratos (%)	23.04	85.75
Cenizas (%)	0.63	2.34
Fibra cruda (%)	2.22	8.26
Acidez titulable *	0.88	3.28
A.R.D. (% glucosa) * *	3.82	14.25
A.R.T. (% glucosa) * * *	12.06	44.98
Energía total (Kcal)	88.51	330.13

\* Expresado en ácido cítrico

\* A.R.D: Azúcares reductores directos

\* \* A.R.T: Azúcares reductores totales

**Fuente:** Vargas y Pisfil, 2008.

#### 2.2.1.6. Producción nacional y regional del níspero de palo

El Perú a través del Ministerio de Agricultura mediante las Direcciones Regionales Agrarias, tienen la tarea de recabar la información estadística de la producción agrícola nacional. Para el año 2009 se reportó una producción nacional de 2 241 toneladas anuales de níspero de palo (*Mespilus germanica L.*), de las cuales la región de Apurímac alcanza 122 toneladas.

En las siguientes tablas 2 y 3 se tienen la información correspondiente de la producción y precios del níspero de palo por regiones en el Perú:

**Tabla 2.** Perú: Producción mensual de níspero, según región o subregión en el año 2009 (ton)

Región/subregión	Total	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Dic
Nacional	2,241	4	24	78	128	102	127	158	158	662	693	107	--
Tumbes	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Piura	14	2	5	4	3	--	--	--	--	--	--	--	--
Lambayeque	35	--	2	9	11	13	--	--	--	--	--	--	--
La Libertad	31	--	1	5	13	11	1	--	--	--	--	--	--
Cajamarca	144	--	--	43	66	31	4	--	--	--	--	--	--
Cajamarca	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Chota	144	--	--	43	66	31	4	--	--	--	--	--	--
Jaén	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Amazonas	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ancash	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Lima	1,506	--	--	--	--	--	--	--	78	635	692	101	--
Ica	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Huánuco	14	--	--	--	3	8	3	--	--	--	--	--	--
Pasco	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Junín	35	--	--	--	--	5	9	10	8	4	--	--	--
Huancavelica	50	--	--	7	28	15	1	--	--	--	--	--	--
Arequipa	5	--	--	--	--	--	--	--	--	5	--	--	--
Moquegua	31	--	12	8	4	--	--	--	--	--	--	6	--
Tacna	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ayacucho	253	--	--	--	--	19	66	92	62	13	1	--	--
Apurímac	122	2	4	3	--	--	43	56	10	5	--	--	--
Abancay	8	2	4	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Andahuaylas	114	--	--	--	--	--	43	56	10	5	--	--	--
Cusco	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Puno	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
San Martín	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Loreto	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ucayali	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Madre de Dios	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fuente: Direcciones Regionales Agrarias - Dirección de Información Agraria (2009)

Elaboración: Ministerio de Agricultura - Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos - Unidad de Estadística



**Tabla 3.** Perú: Producción, superficie cosechada, rendimiento y precio en chacra de níspero, según región o subregión en el año 2009 (ton)

Región/subregión	Producción (t)	Superficie (ha)	Rendimiento (kg/ha)	Precio en chacra (S/./kg)
Nacional	2,241	379	5,916	0.67
Tumbes	--	--	--	--
Piura	14	18	754	0.15
Lambayeque	35	5	7,000	0.98
La Libertad	31	11	2,845	0.60
Cajamarca	144	70	2,063	0.63
Cajamarca	--	--	--	--
Chota	144	70	2,063	0.63
Jaén	--	--	--	--
Amazonas	--	--	--	--
Ancash	--	--	--	--
Lima	1,506	173	8,705	0.69
Ica	--	--	--	--
Huánuco	14	4	3,500	0.45
Pasco	--	--	--	--
Junín	35	6	5,908	0.52
Huancavelica	50	20	2,515	0.36
Arequipa	5	1	5,160	2.00
Moquegua	31	7	4,357	1.18
Tacna	--	--	--	--
Ayacucho	253	43	5,884	0.59
Apurímac	122	21	5,872	0.59
Abancay	8	2	4,000	0.59
Andahuaylas	114	19	6,072	0.59
Cusco	--	--	--	--
Puno	--	--	--	--
San Martín	--	--	--	--
Loreto	--	--	--	--
Ucayali	--	--	--	--
Madre de Dios	--	--	--	--

Fuente: Direcciones Regionales Agrarias - Dirección de Información Agraria (2009)

Elaboración: Ministerio de Agricultura - Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos - Unidad de Estadística

## 2.3. Marco conceptual

### 2.3.1. Fibra dietética

Burkitt y Trowell (1975), adoptan un término más amplio y definen la fibra dietética como “el remanente de los componentes de la planta que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas intestinales humanas” (Burkitt y Trowell 1975), Este concepto engloba a los componentes de la pared celular como celulosas, hemicelulosas y lignina, y a otros polisacáridos presentes en las plantas como las gomas, mucílagos, celulosas modificadas, oligosacáridos y pectinas, que son comestibles y resistentes a la digestión.

En esa época diversos estudios epidemiológicos encuentran una correlación entre el consumo de determinados alimentos no digeribles y la disminución de ciertas patologías, como el estreñimiento, la obesidad, la diabetes, la enfermedad coronaria e incluso determinados tipos de cáncer, proponiendo la conocida “hipótesis de la fibra dietética” (Kim, 2000).

En el año 2001, la *American Association of Cereal Chemist* (AACC) amplió aún más este concepto. La fibra dietética es la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con completa o parcial fermentación en el intestino grueso; también incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina, y sustancias asociadas de la planta; promoviendo efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, que atenúa los niveles del colesterol y la glucosa en la sangre (AACC, 2001).

### **2.3.1.1. Clasificación de la fibra dietaria**

Velázquez de Castro (2007), clasifica a las fibras en función de dos de sus propiedades, que son responsables de la mayoría de sus beneficios fisiológicos: capacidad de fermentabilidad y comportamiento en contacto con el agua (solubilidad).

#### **a). Fibras fermentables y no fermentables**

La fibra llega al intestino grueso de forma inalterada. Aquí, al contrario de lo que ocurre con las enzimas digestivas humanas del intestino delgado, las bacterias del colon, con sus numerosas enzimas de gran actividad metabólica, pueden digerir en mayor o menor medida la fibra dependiendo de su composición química y de su estructura (Velázquez de Castro, 2007). El ciego es un receptáculo donde se almacenan las heces durante un cierto tiempo y donde las bacterias intestinales degradan la fibra consumida, así como los carbohidratos solubles malabsorbidos en el intestino delgado, como lactosa y fructosa, y los carbohidratos endógenos, como las mucinas y las glucoproteínas del intestino grueso. Estas reacciones son tan intensas que el valor del pH desciende bruscamente de 7-7.5 a 6-6.5 y la temperatura sube aproximadamente 0.7°C (Redondo, 2002). Las moléculas complejas son desdobladas a hexosas, pentosas y alcoholes que ya no pueden ser absorbidos en el intestino grueso, sirviendo de sustrato a otras colonias bacterianas que degradan a hidrógeno, metano y dióxido de carbono; responsables del cierto grado de flatulencia, ácido láctico y, especialmente AGCC. En estos procesos se produce una gran cantidad de energía que es aprovechada por las bacterias que realizan esta fermentación (Cummings y Branch, 1986).

Es importante tener en cuenta que la degradación total o parcial de la fibra en el colon no sólo depende del tipo de ésta, sino también de la velocidad con que se realiza el tránsito a lo largo del mismo; en el caso de un tránsito rápido, la cuota de degradación es más pequeña que si acontece de forma lenta (El Oufir *et al.*, 2000). Todos los tipos de fibra a excepción de la lignina pueden ser fermentadas por las bacterias intestinales, aunque en general las solubles lo son en mayor cantidad que las insolubles. Así, las pectinas, gomas o mucílagos tienen un grado de fermentabilidad del 80-95%, mientras que la celulosa lo tiene entre un 15-50% (Redondo, 2002). En función de la fermentación bacteriana, la fibra puede dividirse en:

- **Fibras no fermentables (<10%),** entre éstas se destaca fibras insolubles como la lignina y algunas fibras solubles como la carragenina, la metilcelulosa y la carboximetilcelulosa.
- **Fibras parcialmente fermentables (10-70%),** donde destacan las fibras insolubles rica en celulosa. También pueden entrar en este grupo algunas fibras solubles como el agar y otras parcialmente solubles como las semillas de plantago o el salvado de arroz.
- **Fibras fermentables (>70%),** están constituidas por fibras solubles ricas en hemicelulosas (goma guar, glucomanano) o ricas en ácidos glucurónicos (pectinas o algunas gomas). También se incluyen en este grupo los fructanos.

**b). Fibras solubles e insolubles**

El comportamiento de las distintas fibras en relación con el agua es muy diverso y depende de muchos factores (Mateu, 2004), entre los que podemos señalar la prevalencia de grupos hidroxilo y carboxilo, y la estructura tridimensional. Los grupos hidroxilos presente en la fibra establecen puentes de hidrógeno con las moléculas del agua; los grupos carboxílicos, a través de interacciones iónicas más fuertes, se unen con iones metálicos y éstos a su vez con el agua. Esta unión además favorecerá la orientación de las moléculas del agua. En tercer lugar la presencia de la estructura tridimensional de los polímeros, lineal o ramificada, permite la acumulación del agua en la matriz de la fibra (Velázquez de Castro, 2007).

Debido al diferente comportamiento en relación con el agua, se habla de fibras solubles y fibras insolubles (Tabla 4), condicionando de forma importante sus efectos fisiológicos (Southgate *et al.*, 1978). Las fibras solubles en contacto con el agua forman un retículo donde ésta queda atrapada, originando soluciones de gran viscosidad. Son fibras con elevada capacidad para retener agua. Entre ellas podemos destacar las pectinas, algunas hemicelulosas, las gomas, los mucílagos y los polisacáridos procedentes de algas. La capacidad gelificante es el responsable de muchos de los efectos fisiológicos de la fibra, como la disminución de la glucemia postprandrial y de los niveles plasmáticos del colesterol (Mateu, 2004).

Las fibras insolubles, como la celulosa, diversas hemicelulosas y la lignina, se caracterizan por su escasa capacidad para formar soluciones viscosas. Estas

fibras pueden retener agua, aunque esta capacidad es siempre menor que en el caso de las solubles. Las características físicas pueden influir también en la capacidad de captar agua, así por ejemplo, es muy importante el tamaño de la partícula ingerida. El salvado de trigo finamente molido capta un 26% menos de agua que el no molido (Redondo, 2002).

Finalmente, es interesante resaltar que los procesos de fermentación en el intestino grueso pueden afectar a la capacidad de retención hídrica de los diferentes tipos de fibra. Así, las fibras que contienen componentes insolubles tales como la celulosa y hemicelulosa, con menor grado de retención acuosa inicial, tienden a tener un mayor efecto sobre la retención final de agua y por tanto, un mayor peso fecal que las solubles. La razón de este hecho, aparentemente paradójico, radica en que las fibras solubles que retienen más agua en los segmentos digestivos iniciales son fermentadas por la microbiota intestinal colónica, con lo que se produce más masa bacteriana que contribuye a la masa fecal, pero desaparece el agua que retenían. Por el contrario, la fibra insoluble es mucho menos atacable por la microbiota, contribuyendo decisivamente a los contenidos fecales por el residuo no digerido y el agua retenida, aunque en principio esta última era menor comparativamente con la que retenía la fibra soluble.

En este sentido, el salvado de trigo, rico en celulosa y hemicelulosa no soluble, aumenta mucho el residuo no digerido, mientras que la fibra de frutas y verduras y otros polisacáridos solubles fermentan en gran proporción dando lugar a una menor masa fecal, aunque produzcan una gran masa bacteriana (Velázquez de Castro, 2007).

**Tabla 4:** Solubilidad y fermentabilidad de las fibras

<b>Fermentabilidad</b>	<b>Principalmente solubles</b>	<b>Soluble + Insolubles</b>	<b>Principalmente insolubles</b>
Fermentables (>70%)	Pectina Goma guar Goma arábica Tragacanto Fructanos		
Parcialmente fermentables (10-70%)	Agar <i>Plantago ovata</i> (cáscara)	Salvado de arroz <i>Plantago ovata</i> (semilla)	Salvado de trigo Celulosa
No fermentables (<10%)	Carragenina Karaya		Lignina

**Fuente:** Velázquez de Castro (2007).

### 2.3.1.2. Compuestos asociados a la fibra

Hay muchos compuestos que se podrían asociar dentro de la fibra alimentaria como almidón resistente, proteína resistente, compuestos de la reacción de Maillard, oligosacáridos no digeribles y sales de ácido fítico. Estos compuestos llegan hasta el colon y producen efectos similares a los producidos por polisacáridos de la pared celular (Molina y Martín, 2007).

Los hidratos de carbono no digeribles tienen efectos asociados tradicionalmente a la fibra dietética (FD). En el intestino delgado, la FD se dispersa en agua, con lo que aumenta su volumen y su viscosidad. Estas propiedades están asociadas con la disminución del tránsito intestinal y la absorción de nutrientes; también están asociadas con la reducción del colesterol y la atenuación de la glicemia alimentaria. En el intestino grueso, la fermentabilidad y el aumento de volumen

de los hidratos de carbono no digeribles definen el papel esencial en el mantenimiento de la salud gastrointestinal. Hay evidencias que indican que la FD se fermenta en el intestino grueso, lo que favorece un aumento de la microbiota y como consecuencia, una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta (Molina y Martín, 2007).

### **2.3.1.3. Efectos fisiológicos de la fibra**

#### **a). Velocidad de tránsito intestinal**

Los componentes no hidrosolubles (celulosa, hemicelulosa y lignina), aumentan la velocidad del tránsito intestinal, en cambio, las fibras hidrosolubles (pectina y guar, entre otras) tienen la propiedad de disminuir la velocidad de absorción intestinal de la glucosa (el vaciamiento gástrico resulta mas lento), y además dificultan el contacto con el epitelio intestinal absorbente (Monreal *et al.*, 2002). Como consecuencia de todo ello, el paso de la fibra a lo largo del aparato digestivo puede tener diversos efectos (Molina y Martín, 2007):

- Sensación de saciedad, lo que provoca una menor ingesta de alimentos.
- Regulación intestinal.
- Disminución del tiempo de tránsito intestinal de los alimentos.
- Control del estreñimiento y aumento de la excreción.
- Retraso de la absorción de glucosa y, por tanto, menor índice glicémico.
- Disminución del colesterol.
- Menor contenido calórico en la dieta.



- Mantenimiento y desarrollo de la microbiota intestinal.
- Mayor excreción de grasa y proteína.
- Factor preventivo de cáncer intestinal.

En general, cualquier fibra con alta proporción de fibra insoluble y elevada capacidad de retención de agua mejora el funcionamiento gastrointestinal, lo que conduce a un aumento de la cantidad de heces y por consiguiente un menor tiempo de tránsito intestinal. (Monreal *et al.*, 2002).

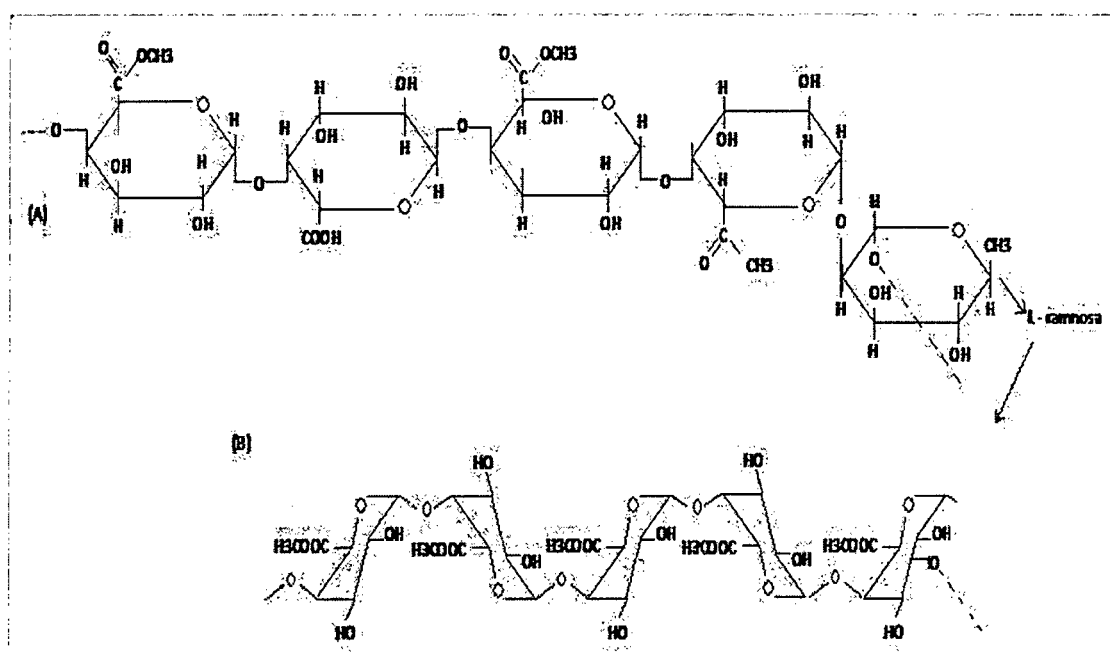
**Tabla 5:** Acciones de los componentes de la fibra en el organismo

Tipo de fibra	Acción
Celulosa	Capacidad de retención de agua, reducción de presión colónica y reducción del tiempo de tránsito intestinal.
Hemicelulosa	Capacidad de retención de agua, incremento de la masa fecal, reducción de la presión colónica, reducción del tiempo de tránsito intestinal y posibilidad de retener ácidos biliares.
Pectinas, gomas y mucílagos	Retiene los ácidos biliares, reduce la evacuación gástrica e incrementa la fermentación colónica.
Lignina	Capacidad de retención de agua, ligado de minerales, aumento de excreción y posibilidad de incrementar la defecación

**Fuente:** Hernández *et al.* (1995).

### 2.3.2. Pectinas

Las descripciones más elementales de las pectinas consideran a estos polímeros lineales de moléculas de ácido  $\alpha$ -D-galacturónico unidas a través de enlaces (1-4), con determinada proporción de sus grupos carboxilos esterificados con metanol, como muestra la figura 2, sus pesos moleculares son elevados probablemente en torno a 100.000. El grado de esterificación de las pectinas no modificadas, es decir, de aquellas que no han sido deliberadamente desesterificadas durante la extracción o el procesado, varía entre alrededor de 60% en la pulpa de manzana y cortezas de cítricos, y alrededor de 10% en la fresa (Coulate, 2007).



**Figura 2.** Estructura poligalacturonano de la pectina. (A) Muestra cuatro restos de ácido galacturónico, tres de los cuales están metilados, y un resto de ramnosa (B) muestra la misma estructura en su conformación en silla para ilustrar la forma en zig-zag de la cadena. Por claridad se han omitido los átomos de hidrogeno del anillo. El efecto del resto de ramnosa sobre la conformación de la cadena está claro.

Hasta un 20% (aunque un poco menos) de los azúcares en una pectina son azúcares neutros, como: L-ramnosa, D-glucosa, D-galactosa, L-arabinosa y D-xilosa. En todas las pectinas se encuentran restos de L-ramnosa unidas por un enlace 1,2 a las cadenas principales. La presencia de otros azúcares neutros varía con la especie vegetal, pero los trabajos recientes realizados sobre la pectina de las manzanas, que son una fuente importante de pectinas industriales, probablemente constituyan un modelo útil a la hora de abordar la estructura de otras pectinas. Parece que la molécula de pectina de manzana es una cadena de ramnogalacturonano extendida. Los polisacáridos denominados galacturonano, glucano y arabinogalactano contienen, respectivamente ácido galacturónico, glucosa y arabinosa y galactosa. El sufijo “an” deriva de “anhidro” e indica que los enlaces entre las unidades de monosacáridos se forman al retirarse la molécula de agua (Coulate, 2007).

#### **2.3.2.1. La pectina presente en la estructura celular de los vegetales**

Las pectinas nativas que se encuentran en las paredes celulares y en los espacios intercelulares de todas las plantas terrestres son moléculas más complejas que se convierten en los productos comerciales por extracción con ácido. Las pectinas comerciales se obtienen de las peladuras de los cítricos y de las manzanas. Las pectinas tienen la propiedad única de formar geles extendibles en presencia de azúcar y ácido, y también en presencia de iones calcio. Las composiciones y propiedades de las pectinas varían con la fuente de obtención, los tipos de procesamiento usados en su preparación y los tratamientos subsiguientes. Durante la extracción con ácidos débiles se produce una cierta despolimerización hidrolítica y también hidrólisis de los grupos metiléster. Por ello el término pectina denota una familia de compuestos, y esta

familia es parte de una familia todavía mayor, conocida como de las sustancias pécticas. El término pectina sin embargo se utiliza normalmente en un sentido genérico para designar las preparaciones de galacturonoglicanos hidrosolubles, con contenido de grupo metil éster y grados de neutralización variables, que son capaces de formar geles. En todas las pectinas naturales, algunos de los grupos carboxilo están en forma de grupos metiléster. Dependiendo de las condiciones de aislamiento los grupos carboxílicos libres restantes pueden estar parcial o totalmente neutralizados, es decir como grupos carboxilato sódico, potásico o amónico. Los más típicos se encuentran en forma de sal sódica (Fennema, 2000).

#### **2.3.2.2. Grupos químicos presentes en la estructura de la pectina**

Por definición, las preparaciones en las que más de la mitad de los grupos carboxilos están en forma de los grupos metiléster ( $-\text{COOCH}_3$ ) son clasificadas como pectinas de alto metoxilo (HM). Los grupos carboxílicos no esterificados estarán presentes como una mezcla de libres ( $-\text{COOH}$ ) y en forma de sal ( $-\text{COO-Na}^+$ ). Las preparaciones en las que menos de la mitad de los grupos carboxílicos están en forma de grupos metiléster se denominan pectinas de bajo metoxilo (LM). El porcentaje de grupos carboxílicos esterificados con metanol es el grado de esterificación (GE). El tratamiento de una preparación de pectina con amoníaco disuelto en metanol convierte algunos de los grupos metiléster en grupos carboxamida (15-25%). En el proceso se forma una pectina LM; estos productos se conocen como pectinas LM amidadas (Fennema, 2000). La estructura principal y clave de todas las moléculas de pectina es una cadena lineal de unidades de ácido  $\alpha$ -D-galacturónico unidas por enlaces (1-4). Azúcares neutros, sobre todo L-ramnosa, están también presentes. En

las pectinas de cítricos y de manzana las unidades  $\alpha$ -L-ramnopiranosilo están insertadas en la cadena de polisacárido a intervalos bastante regulares. Estas unidades de  $\alpha$ -L-ramnopiranosilo pueden conferir a la estructura las irregularidades necesarias para limitar el tamaño de las zonas de unión y, por tanto, la gelificación efectiva. Algunas pectinas contienen cadenas de arabinogalactanos altamente ramificadas y/o cortas cadenas laterales de unidades de D-xilosa, unidas por enlaces covalentes. La presencia de cadenas laterales puede ser también un factor limitante de la longitud de las zonas de unión y la asociación de cadenas. Estas zonas de unión se forman entre cadenas de pectinas regulares y no ramificadas cuando se eliminan las cargas negativas de los grupos carboxilato (por adición de ácido), cuando se reduce la hidratación de las moléculas (por adición de un soluto, casi siempre un azúcar a la solución de pectina HM), y/o cuando las cadenas de polímero de ácido pectínico se unen mediante puentes de cationes calcio. La solución de pectina HM gelifican cuando se encuentran presente también la cantidad suficiente de ácido y azúcar. Puesto que el pH de la solución de pectina disminuye, los grupos carboxilato altamente hidratados y cargados se convierten en grupos carboxílicos no cargados y solo ligeramente hidratados. Como resultado de ello, las moléculas del polímero pueden ahora asociarse a lo largo de porciones de su longitud, formando zonas de unión y por tanto una red de cadenas que atrapa la solución acuosa de las moléculas de soluto. La formación de zonas de unión es favorecida por la presencia de una alta concentración (alrededor del 65%, y al menos un 55%) de azúcar, que compite por el agua de hidratación y reduce la solvatación de las cadenas, permitiendo así que interaccionen entre ellas (Fennema, 2000). La siguiente tabla 6 muestra la clasificación de tres tipos de gomas utilizados frecuentemente en la agroindustria:

**Tabla 6.** Polisacáridos de uso alimentario, hidrosolubles, distintos del almidón, de mayor utilización.

Goma	Fuente	Clase	Forma general	Grupos sustituyentes no carbohidratos	Solubilidad en agua	Características generales	Aplicaciones alimentarias más importantes.
Carboximetil-celulosa (CMC)	Derivado de la celulosa	Celulosa modificada	Lineal	Éter carboximético	Alta	Soluciones claras y estables, bien pseudoplásticas y bien tixotropicas	Inhibidor del crecimiento de cristales en postres congelados. Espesante, coadyuvante de suspensiones, coloide protector y mejorador de la textura y cuerpo de alimentos para untar.
Guarano o goma guar	Semilla de guar	Galactomanano de semilla	Lineal con ramificaciones de una unidad (se comporta como un polímero lineal)	--	Alta	Soluciones estables, opacas muy viscosas, moderadamente pseudoplásticas.	Ligante de agua, mejora la palatabilidad, ablanda la textura producida por carragenano + goma garrofín y reduce la velocidad de fusión de los helados.
Pectinas	Piel de los cítricos pulpa de manzana	Extracto de plantas ácido poliurónico	Lineal	Grupos de éster metílico. Puede contener grupos amida	Soluble	Forma geles tipo gelatina y confitura en presencia de azúcar y ácido, o con $Ca^{2+}$	Pectina HM: son de alto metoxilo, forman geles con productos de alto contenido en azúcar, mermeladas confituras y conservas de frutas. Pectina LM: son de Bajo metoxilo, forman geles en presencia de calcio.

Fuente: Fennema, 2000.

La solución de pectina LM gelifican solo en presencia de cationes divalentes, los cuales dan lugar a la formación de puentes de entrecruzamiento. El incremento de la concentración de esos cationes (aunque solamente el calcio es utilizado en las aplicaciones alimentarias), aumenta la temperatura de gelificación y la fuerza del gel. El mismo modelo general de la caja de huevo usado para describir la formación de los geles del alginato cálcico sirve para explicar la gelificación de las soluciones de las pectinas LM y LM amidadas producida por la adición de iones de calcio. La pectina LM, puesto que no requiere azúcar para la gelificación, es utilizada para fabricar mermeladas confituras y jaleas dietéticas (Fennema, 2000).

### **2.3.3. Pardeamiento enzimático**

Es la transformación enzimática en sus primeras etapas, de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, frecuentemente pardos o negros.

### **2.3.4. Operaciones unitarias**

Son conversiones o cambios de tipo físico, que se suscitan en la industrialización de alimentos, como envasado, evaporación, limpieza, mezclado, filtración, etc.

### **2.3.5. Propiedades fisicoquímicas de la pectina**

#### **2.3.5.1. Grado de metoxilación**

Es una característica química de la pectina y que está relacionada con la capacidad de gelificación. El poder gelificante es una de las características más importante de las pectinas. Es favorable que el porcentaje de metoxilos (% metoxilos) fuese elevado lo cual indicaría que la pectina gelifica con facilidad. (Pagan y Gilabert, 1998).

### 2.3.5.2. Acido galacturónico (AGA)

Representa la pureza de la pectina extraída, expresado en porcentaje de AGA (%AGA) es una constante de la pectina de cada variedad de fruto y hay que tener en cuenta de que el acido galacturónico (AGA) en la pectina viene acompañado de azúcares neutros como puede ser D-galactosa, L-arabinosa y L-ramnosa (Pagan y Gilabert, 1998).

### 2.3.5.3. Grados SAG (°SAG)

Representan las unidades de azúcar con respecto a una unidad de peso de pectina a un determinado pH y sólidos solubles (sacarosa). Es decir una pectina de 150°SAG, es capaz de gelificar 150g de sacarosa por un gramo de pectina. La tabla 7 muestra los resultados de la caracterización fisicoquímica de la pectina de diferentes fuentes.

**Tabla 7.** Rendimiento y propiedades fisicoquímicas de la pectina.

Alimentos	Rendimiento	%metoxilos	%AGA	°SAG	Autor
Membrillo ( <i>Cydonia o.</i> ),	n.d.	59	n.d.	n.d.	Ramirez, 2009
Manzana variedad pachacamac	n.d.	3.17	76.3	150	Silva, 2003
Toronja (pH 3, 60min)	6.7	5.32	91.05	n.d.	Camejo de Aparicio, 1996
Toronja (pH 2, 90min)	17.4	4.57	81.65	n.d.	
Cascara de parchita	18.45	9.9	98	n.d.	Addosio <i>et al.</i> , 2005
Naranja valencia	10	n.d.	n.d.	n.d.	Devia, 2003
Cascara de plátano	n.d.	12.72	2.22	n.d.	Vasquez <i>et al.</i> , 2008
Bagazo de melocotón (80°C, pH=1.2, 60min)	13.34	74	55	n.d.	Pagan y Gilabert, 1998
Bagazo de melocotón (80°C, pH=2.53, 60min)	7.04	97	75	n.d.	

**Fuente:** Elaboración propia.

\*n.d.= no determinado.



### 2.3.6. Propiedades funcionales de la fibra

Zambrano *et al.* (2002), caracterizó fisicoquímicamente el contenido de fibra dietética total, fibras solubles y fibras insolubles; además de estudiar las propiedades funcionales tales como: capacidad de absorción, capacidad de retención de agua, capacidad de absorción de moléculas orgánicas y capacidad de intercambio catiónico, teniendo como patrón comparativo a la cascarilla de arroz.

Tamayo y Bermúdez (2002), estudiaron los residuos vegetales de la industria de jugo de naranja como fuente de fibra dietética, sobre el cual se evaluaron las propiedades funcionales expresadas en capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y capacidad de adsorción de aceite. Los estudios se efectuaron sobre residuos de fibras lavadas y deshidratadas.

En la siguiente tabla 8 se muestran los resultados de la caracterización funcional de las fibras de diferentes fuentes de materia prima.

**Tabla 8.** Propiedades funcionales de diferentes alimentos (g/gM.S.)

Alimentos	CAA	CRA	CAG	Autor
Nopal	5.75	4.66	0.688	Zambrano y Hernandez, 2002
Cascarilla de maíz	3.17	2.32	1.57	
Avena	1.42	1.37	1.75	Zambrano y Gallardo, 2002
Col	3.18	3.03	3.8	
Albedo de naranja tratado a 90°C	7.65	n.d.	0.98	Tamayo y Bermúdez, 2002
Albedo de naranja tratado a 80°C	8.23	n.d.	1.95	
Torta de maíz	10.51	n.d.	n.d.	Baquero y Bermúdez, 2002
Fibra de maracuyá	8.7	n.d.	1.5	
Fibra de musgo <i>Sphagnum magellanicum</i>	36	34	23.68	Villarroel <i>et al.</i> , 2003
Fibra de <i>Agave tequilana</i>	9.83	8.16	4.9	Vilcanqui, 2009

**Fuente:** Elaboración propia 2010.

\*n.d.= no determinado.

### **2.3.6.1. Capacidad de retención de agua (CRA)**

Expresa la máxima cantidad de agua que puede ser retenida por una muestra de materia seca de peso conocido, en presencia de un exceso de agua y bajo la acción de una fuerza patrón (Tamayo y Bermúdez, 1998). De esta propiedad depende el efecto fisiológico de la fibra y el nivel máximo de incorporación a un alimento (Zambrano *et al.*, 2002). La retención agua afecta la viscosidad de los productos facilitando o dificultando su procesamiento. Entre los factores que influyen en la capacidad de retención de agua en una fibra se encuentran el tamaño de partícula, el pH y la fuerza iónica (Baquero y Bermúdez, 1998).

### **2.3.6.2. Capacidad de adsorción de aceite (CAG)**

Teóricamente las partículas con gran superficie presentan mayor capacidad para adsorber y atrapar componentes de naturaleza aceitosa; la grasa es atrapada en la superficie de la fibra principalmente por medios mecánicos. Se ha observado que las fibras insolubles presentan mayores valores de absorción de grasa que las solubles, sirviendo como emulsificante. A esta propiedad se le relaciona con la composición química, el tamaño y el área de las partículas de fibra (Cruz, 2002). La retención elevada de aceite imparte jugosidad y mejora la textura de los productos cárnicos, en cambio una baja retención proporciona una sensación no grasosa en productos fritos (Peraza, 2000).

### **2.3.6.3. Capacidad de hinchamiento (CH)**

Se refiere a la capacidad del producto para aumentar su volumen en presencia de un exceso de agua (Tamayo y Bermúdez, 1998). En esta característica tiene influencia la

cantidad de los componentes polisacáridos. porosidad y tamaño de partícula de la fibra (Femenia *et al.*, 1997). En la industria panificadora la inclusión de fibra, en referencia a esta propiedad, soluciona problemas relacionados con la pérdida de volumen y humedad-proporcionando mayor estabilidad durante la vida de anaquel al favorecer una apariencia de fresca (Cruz, 2002).

#### **2.3.6.4. Capacidad de adsorción y absorción de agua (CA<sub>d</sub> y CA<sub>A</sub>).**

La determinación de la CA<sub>d</sub> se basa en el equilibrio del vapor de agua del medio con respecto al alimento y es útil para predecir la estabilidad y cambios deteriorativos de la fibra durante su almacenamiento. La CA<sub>A</sub> es definida como la cantidad de agua que una fuente de fibra es capaz de absorber cuando se le coloca en una cantidad suficiente de la misma, siendo importante esta propiedad cuando la fibra ha de emplearse en productos extrudidos. ya que el material debe ser humectado antes del proceso y durante el mismo. Ambas propiedades se relacionan con la composición química de la fibra, el origen de los compuestos asociados, el pH y la forma en que se prepara la muestra (Zambrano *et al.*, 2002).

#### **2.4. Propiedades químicas de la pectina**

Las pectinas son hidrocoloides que en solución acuosa presentan propiedades espesantes, estabilizantes y sobre todo gelificantes. Son insolubles en alcoholes y disolventes orgánicos corrientes y parcialmente solubles en jarabes ricos en azúcares (UNC, 2006).

**a). Dispersabilidad y solubilidad**

La disolución en agua de las pectinas en polvo tiene lugar en tres etapas: Dispersión, hinchado y disolución. Para la dispersión del polvo es necesaria una fuerte agitación a fin de separar bien los gránulos de pectina e impedir la formación de grumos que serían posteriormente insolubles. Una vez dispersada, la pectina necesita tiempo más o menos largo (función de la temperatura, de la concentración, de la dureza del agua, etc.) para hidratarse: es la etapa de hinchado.

**b). Propiedades de las disoluciones de pectina**

A temperatura ambiente y a su propio pH, (2.8-3.2) las pectinas son tanto más solubles en agua cuanto mayor es su grado de esterificación. Las disoluciones que se obtienen presentan un carácter aniónico (carga negativa) que puede comportar incompatibilidades en la formulación de algunos productos alimenticios.

La viscosidad de la solución depende de:

- La concentración y la temperatura
- El peso molecular y el grado de esterificación de la pectina
- La presencia de electrolitos en el medio
- La dureza del agua, especialmente en las pectinas de bajo metoxilo

Este grado de esterificación determinará el comportamiento de las pectinas junto a los ingredientes necesarios para la gelificación. Es así que las pectinas con alto metoxilo necesitan para formar geles contar con una concentración mínima de sólidos solubles y un valor de pH que oscila entre un rango relativamente estrecho. El peso molecular de la pectina, que depende directamente de la longitud de la cadena molecular, influirá en la solidez del gel producido, es decir del poder gelificante de la pectina.

Este poder se ha convenido expresarlo en los grados SAG (150°SAG para pectina de alto metoxilo y 110° SAG para pectinas de bajo metoxilo). Estos grados se definen como "el número de gramos de sacarosa que en una solución acuosa de 65 ° Brix y un valor de pH 3.2 aproximadamente, son gelificados por un gramo de pectina, obteniéndose un gel de una consistencia determinada".

Los grados SAG de una determinada pectina extraída de una fruta como la manzana o cáscaras de cítricos, varían principalmente según el grado de madurez de la fruta, del proceso de extracción y condiciones de almacenamiento de la pectina obtenida.

## **2.5. Clasificación de la pectina**

Las pectinas en general se clasifican de la siguiente manera.

### **2.5.1. Pectinas de alto metoxilo (HM)**

Estas pectinas de alto metoxilo se caracterizan por un diferente comportamiento respecto a la gelificación, entendiéndose por gelificación el inicio de la formación del gel que aparece cuando una vez completada la cocción, la masa se enfría y alcanza la temperatura crítica de gelificación. Esta temperatura es característica de cada pectina.

Las disoluciones de pectina son estables en medio ácido (pH: 2.5 a 4.5) incluso a temperaturas elevada; por el contrario sufren una rápida degradación en medio alcalino (UNC, 2006).

Las enzimas pectolíticas degradan las soluciones de pectina, según el tipo de enzima se producirá una reacción diferente que afectará el grado de esterificación o su peso molecular y con esto su poder gelificante.

### 2.5.1.1. Gelificación con pectinas de alto metoxilo

El proceso de gelificación con este tipo de pectinas requiere la presencia de cuatro componentes: pectina, agua, azúcar y medio ácido.

Cuando la pectina entra en solución acuosa, sus grupos carboxilo se disocian parcialmente para formar iones carboxilo con carga negativa ( $R-COO^-$ ) provocando así el aumento de la carga negativa de las moléculas y la recíproca repulsión entre ellas. Todo esto favorece la disociación de la pectina.

La adición de azúcar y de ácido modifica completamente este cuadro. El azúcar desarrolla una acción deshidratante sobre la pectina y la lleva al límite de la solubilidad; el ácido, liberando iones hidrogeno positivos, neutraliza la acción de los iones carboxilos negativos, reduce al mínimo el aumento de la carga eléctrica y la disociación de la pectina, y favorece las uniones físicas de sus moléculas.

De la acción mutua entre el azúcar y del ácido sobre la pectina en solución, a temperatura suficiente para facilitar la solubilización y las uniones físicas de los componentes, nace la típica estructura reticular que, enfriándose se solidifica en forma de gel.

El uso de los diferentes tipos de pectinas está recomendado de la siguiente forma:

#### **a). Pectinas de gelificación a velocidad media y rápida**

Son usadas para la fabricación de mermeladas destinadas a ser empacadas en recipientes pequeños (máximo 1 Kg.), ya que la rapidez de gelificación evita que la

fruta en trozos flote durante la fase de enfriamiento. Estas pectinas son también empleadas para aquellos productos que requieren un valor relativamente alto de pH (pH=3.0-3.5 para 65% de sólidos solubles).

#### b). Pectina de gelificación lenta

Es usada para mermeladas y geles en general, y para productos que deben ser empacados en recipientes de grandes dimensiones (en este caso es indispensable enfriar la masa a temperaturas de 70-75°C antes del llenado).

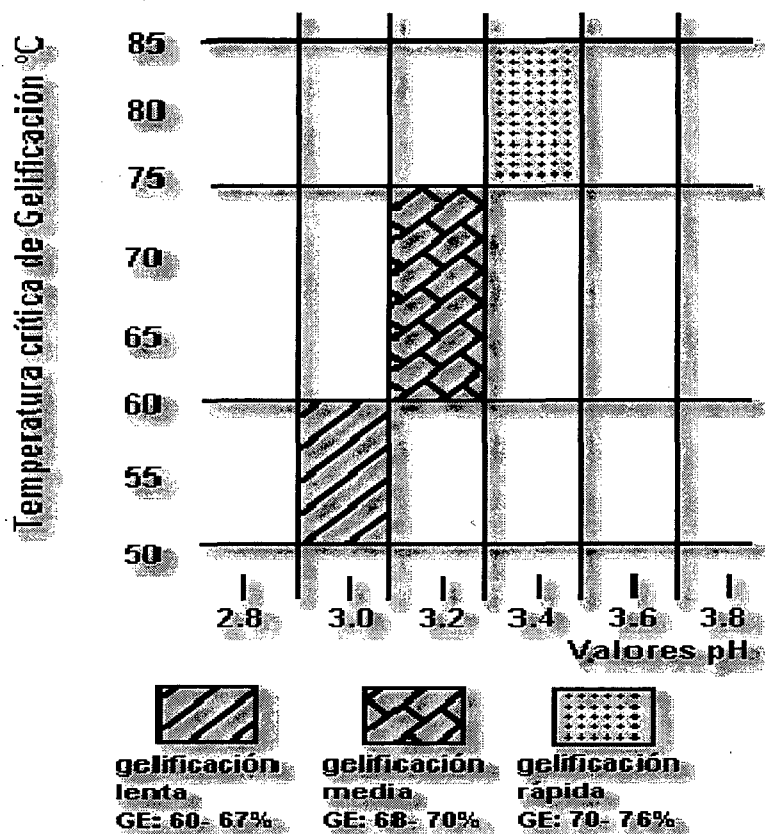
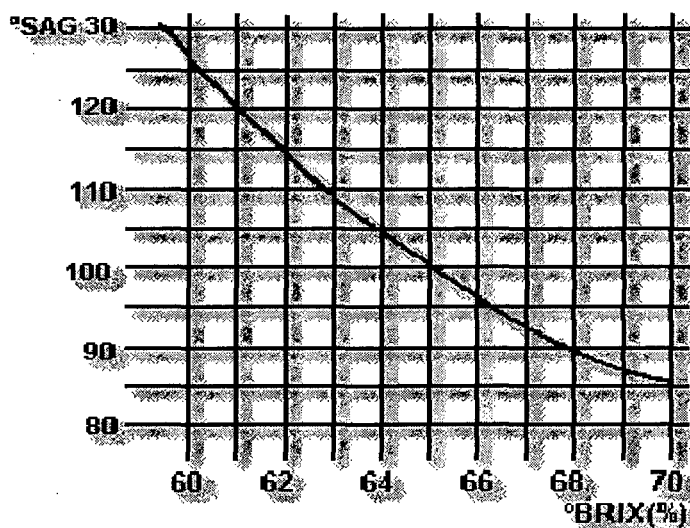


Figura 3. Intervalos de temperatura y pH a los que gelifican pectinas HM.

También ha tenido éxito, en el caso de mermeladas, una mezcla de pectinas de rápido y lento grado de geificación para provocar un gel que bloquee a altas temperaturas las partículas de fruta suspendidas y además para permitir la gelificación final a más baja temperatura. La dosificación de la pectina es fácilmente calculable, en forma teórica, conociendo su graduación o grados SAG y el contenido de azúcar de la masa a gelificar: la relación entre el peso total de los azúcares y la graduación de la pectina permite obtener la cantidad de pectina necesaria para la gelificación. En la práctica esta dosificación, válida para un jarabe con 65°Brix y para un determinado pH, cambia con la variación de su pH y el valor de los sólidos solubles.

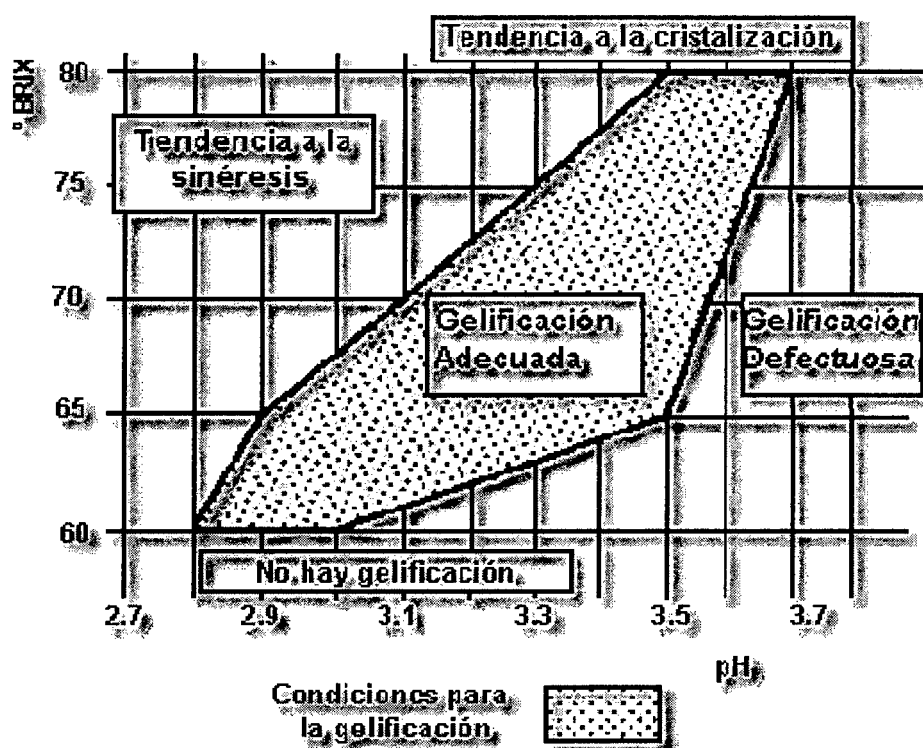
La cantidad de pectina requerida para obtener un gel de determinada consistencia esta en relación inversa a la concentración de azúcar de la masa a gelificar como se puede observar en la figura 4.



**Figura 4.** Curva de equilibrio en la consistencia del gel ante la variación de la fuerza de la pectina y los sólidos solubles finales del producto.



A una mayor cantidad de azúcar presente corresponde una menor cantidad de líquidos, o sea una menor densidad de la estructura para retenerla (y por lo tanto menos pectina), y viceversa, una menor concentración de azúcar requiere una estructura reticular más densa (o sea más pectina) para retener la mayor cantidad de líquidos presentes.



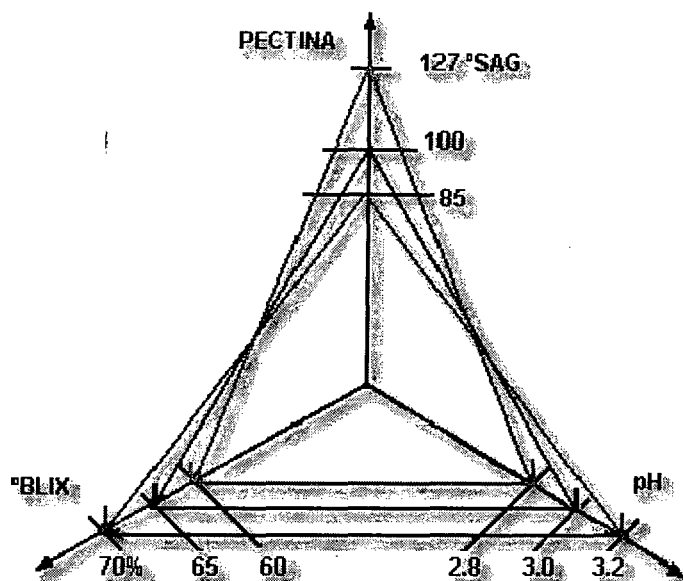
**Figura 5.** Condiciones de gelificación de las pectinas de alto metoxilo.

En la práctica industrial otros factores intervienen para modificar las dosis teóricas de pectina; estos son debidos a la fruta, por el aporte de poder gelificante de las sustancias pécticas naturales; por la presencia de sales solubles y de fibras insolubles, que contribuyen a la consistencia del producto final.

En la figura 5 se observa el área interna del polígono, en la que se dan condiciones de concentración de materia seca o sólidos de la mermelada y de pH en las que es más probable la gelificación. Por ejemplo a 65° Brix la gelificación puede ocurrir si la mezcla de ingredientes fluctúa entre pH 2.9 a 3.5. Esta amplitud de pH se restringe de manera significativa si los Brix bajan alrededor de 60% o suben al 80%.

Si un producto de 68° Brix tiene pH inferior a 3.0 o superior a 3.6 posiblemente presentará sinéresis en el primer caso o gelificación defectuosa en el segundo. Si los Brix son inferiores a 60% no habrá gelificación y superiores a 80% seguramente se presentará cristalización del azúcar presente en mayor concentración.

En la figura 6 se sintetiza la interdependencia de los tres parámetros, pectina, pH y Brix. Se observa que mezclas con altos Brix gelificarán con mayor facilidad a pH de 3.2 sin necesitar pectinas de altos °SAG y de manera opuesta, mezclas de poco contenido en Brix necesitan pH más ácidos (pH cercanos a 2.8) con pectina de alta graduación de SAG o en general altas cantidades de pectina.



**Figura 6.** Equilibrio de los ingredientes para lograr la gelificación

Teniendo en cuenta la dificultad de evaluar todos los factores que modifican los valores teóricos, la exacta dosificación para cada partida de fruta o de jugos se obtiene efectuando una pequeña prueba, partiendo de la dosis teórica y modificándola con base en los resultados obtenidos. Ahora, la dosis óptima valdrá para toda la partida.

Un último factor, ajeno a la naturaleza de los componentes del producto y que influye sobre la dosificación de la pectina es el tamaño de los recipientes de empaque. Los frascos de grandes dimensiones requieren una mayor consistencia del producto que los recipientes pequeños, y las dosis de pectina varían en consecuencia. Así por ejemplo, recipientes de 1 kg. necesitarían aumentar en un 2% la cantidad de pectina prevista. Uno de 10 kg. se aumentará en un 20%.

En el proceso de gelificación, la formación de la estructura reticular del gel tiene lugar durante la fase de enfriamiento que sigue a la cocción de la mezcla de los varios ingredientes, y más precisamente comienza cuando viene alcanzada la temperatura crítica de gelificación de la pectina empleada. En la práctica los valores teóricos de esta temperatura son superados por unos pocos grados de presencia de sales naturales de las frutas.

Respecto a la temperatura a la que se produce la gelificación es mayor si se aumenta cualquiera de los siguientes factores: acidez, Brix, cantidad de glucosa o pectina y más, si esta es de alto metoxilo y de gelificación rápida (ver figura 3).

El tiempo que transcurre antes de producirse la gelificación disminuye al aumentar la acidez, los Brix totales y por el uso de pectinas de alto metoxilo.

La cocción prolongada provoca además de un exceso de inversión y caramelización de la sacarosa, un inconveniente más grave sobre la pectina, y es su degradación y daño irreparable. Mantener la masa a temperaturas superiores a los 100 °C afecta rápidamente las cualidades gelificantes de la pectina al producir su hidrólisis.

Es por esto muy importante, para utilizar todo el poder gelificante de la pectina, reducir al mínimo el tiempo durante el cual la pectina participa en la cocción y acelerar el enfriamiento del producto terminado.

### 2.5.2. Pectinas de bajo metoxilo (LM)

Al contrario de las pectinas de alto metoxilo las pectinas de bajo metoxilo (LM) forman geles termorreversibles por interacción con el calcio presente en el medio; el pH y la concentración de sólidos son factores secundarios que influyen en la velocidad y la temperatura de gelificación y además en la textura final del gel.

En efecto estas pectinas tienen la propiedad de formar gel cuyo soporte está constituido por una estructura reticular de pectinatos de calcio, mientras su contenido de sólidos solubles puede bajar hasta 2%, y el valor de pH acercarse a la neutralidad. Para la gelificación, por esto, la sola presencia de la pectina y de las sales de calcio es necesaria y suficiente (UNC, 2006).

El comportamiento de las pectinas de bajo metoxilo está, como para las otras pectinas, influenciado por varios factores, entre los cuales el azúcar y el ácido que, si bien no son necesarios, condicionan las dosis de los componentes para la óptima gelificación, entre estos factores están:

- a. El grado de esterificación de la pectina
- b. El peso molecular de la pectina
- c. El ° Brix del producto
- d. El valor del pH del producto
- e. La cantidad de sales de calcio presente en los componentes

Las pectinas que se pudieran conseguir en el mercado (internacional) varían en su grado de esterificación y en algunos casos ya llevan incorporadas cantidades de sales

de calcio para ser utilizadas con valores de pH y sólidos solubles precisos. La extensión del campo de empleo, desde pH=2.5 a 6.5 y Brix=0-80%, permite obtener una amplísima gama de productos interesantes para la industria de alimentos, de dulces, cosmética, farmacéutica, etc.

La dosis de pectina, que generalmente se determina por pruebas con pequeñas cantidades de materias primas disponibles, está normalmente comprendida entre 0.3 y 2% del peso final del producto. Las modalidades de empleo práctico no difieren de las empleadas con pectinas de alto metoxilo, y como para estas, hay que tener un máximo cuidado en su perfecta disolución para la completa utilización del poder gelificante. Estas pectinas también tienen un amplio rango de temperaturas para la gelificación el cual oscila entre 38 y 100 °C.

## **2.6. Métodos para la medición de la graduación de la pectina**

La graduación de una pectina es medida por la consistencia o fuerza del gel obtenido al emplear una formulación determinada. Entre los varios métodos usados para realizar esta medición, se halla la medida de los grados SAG de donde ha tomado el nombre de método SAG (IFT). Este método está recomendado por el Comité de Expertos IFT (International Food Technologist) para la normalización de pectinas desde 1959. Este método usa un rigelímetro el cual dispone de un tornillo que permite medir la deflexión de un gel normalizado. Este gel ha sido preparado con la pectina a la cual se le desea medir sus grados SAG (UNC, 2006).

El gel normalizado posee las siguientes características:

- Materia seca refractométrica: 65%
- pH de la masa: 2.3 a 2.4
- Fuerza gelificante normal: 23.5% de penetración medida en un ridgélmetro.

La lectura hecha sobre el gel en cuestión se lleva a una gráfica que permite determinar la variación de los grados SAG de la pectina sometida a análisis.

Otros instrumentos que permiten medir las propiedades de los geles son el Gelómetro de Tarr-Baker, que mide la presión necesaria para provocar la rotura de la superficie libre de del gel con un pistón de forma y dimensiones preestablecidas. Las medidas hechas con este aparato son poco prácticas y de uso complicado, no son siempre reproducibles y dan una aproximación del 5%.

Rigidometro de Owens & Macllay que mide el ángulo de rotación de una paleta mecánica, sumergida en el gel, sobrepuesta a una determinada pareja de torsión. Las medidas hechas con este equipo, de uso algo complicado, dan una aproximación también del mas o menos 5%.

Rigidómetro "Exchange" de Cox & Higby que mide el hundimiento de la forma de un gel dejado en reposo. Por la medida del hundimiento reportado sobre un diagrama suministrado con cada equipo, se obtiene la real graduación de la pectina examinada. La aproximación obtenida con este equipo es de 2%. Su uso rápido y seguro y la reproducibilidad de las medidas han merecido su utilización más generalizada.

## **2.7. Empleo de la pectina y su aplicación en la industria alimentaria**

El empleo de la pectina como gelificante ha sido muy extenso debido a las características de las pectinas de bajo metoxilo, de los pectatos y ácidos pépticos, para formar geles con calcio o iones equivalentes, sin o casi sin la presencia de azúcar.

Con estas pectinas se hallan geles que encuentran interesantes aplicaciones no solo en la industria alimentaria, sino también en la farmacéutica y cosmética, para la preparación de pastas y cremas gelificadas, como dispersante y en general para reducir la presencia de azúcar.

En muchos casos además, el empleo de las pectinas de bajo metoxilo es facilitado por la baja temperatura de fusión de los geles obtenidos y por su capacidad de retomar el aspecto primitivo, después de la fusión.

Las pectinas de bajo metoxilo y sus sales (pectinatos) son utilizados en la industria alimentaria para la preparación de pudines de leche, geles de jugos de fruta o mezclas de frutas, geles para rellenos de pastelería, mermeladas para bizcochería y mermeladas con contenido de sólidos inferiores al 55%.

Las pectinas son un hidrato de carbono que no se absorbe en el intestino y cuyas interesantes propiedades hacen que su consumo pueda resultar beneficioso en el tratamiento de algunas patologías.

Las pectinas son un hidrato de carbono que forma parte de la fibra soluble, este tipo de fibra en contacto con el agua, forma un retículo en el que el agua queda atrapada haciendo que la mezcla se gelifique. Gracias a su capacidad de absorción de agua, la pectina aumenta el volumen de las heces. Además, es capaz de captar sustancias a nivel intestinal y retrasar la absorción de algunos nutrientes así como de ralentizar el vaciado gástrico (Devia, 2003).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. Equipos de laboratorio

- Autoclave
- Balanza analítica, precisión 0.0001g.
- Balanza digital cap. 200g modelo ES-200<sup>a</sup>, precisión 0.01g
- Centrifuga
- Cocinilla eléctrica
- Estufa de desecación, provista de termostato y regulada a  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Incubadora
- Mechero bunsen
- pH-metro
- Refractómetro
- Termómetro de mercurio

##### 3.1.2. Materiales de laboratorio

- Bureta (Equipo de titulación)
- Botella de vidrio
- Cuchillo
- Colador de plástico
- Desecador provisto de gel de sílice con indicador de humedad
- Matraces de 250ml
- Mortero y pilón

- Probeta graduada
- Pipetas volumétricas 1,2,5 y 10ml
- Placas petri con su respectivas tapas
- Tubos de ensayo
- Tubos de ensayo con tapa rosca
- Tubos de base cónica graduado
- Tamiz de malla 60
- Vasos de precipitados (cap. 500ml)
- Vasos de precipitados (cap. 100ml)

### **3.1.3. Reactivos y medios de cultivo**

- Solución de  $H_2SO_4$  0.1N
- Solución de NaOH 0.1N
- Solución de NaOH 0.25N
- Solución de HCl 0.25N
- Solución de fehling A y B
- Solución tampón pH de 7
- Solución tampón pH de 4
- Fenolftaleína
- Etanol de 96%
- Agua destilada
- Medio agar YGC
- Medio agar plate count
- Medio agar violeta red bile

### **3.1.4. Insumos**

- Aceite vegetal
- Azúcar rubia común
- Acido cítrico comercial

## **3.2. Métodos**

### **3.2.1. Recolección y transporte de la materia prima**

Para el presente trabajo de investigación, la muestra del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), se recolectó en la región de Apurímac, provincia de Andahuaylas, distrito de Talavera, centro poblado de Aranjuez. Ubicada al noroeste de la región de Apurímac. Las condiciones climáticas de la zona son variadas con abundante precipitaciones fluviales desde el mes de noviembre hasta febrero y con presencia de heladas. La recolección y transporte de los frutos se realizó en el mes de junio, aplicando el muestreo al azar en los arboles de níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), logrando obtener muestras homogéneas y representativas.

### **3.2.2. Preparación de la muestra**

Las muestras fueron transportadas del distrito de Talavera, provincia de Andahuaylas hasta las instalaciones del Laboratorio de Química de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac ubicado en el distrito de Tamburco, provincia de Abancay, región de Apurímac. Las muestras de níspero fueron debidamente acondicionadas para el análisis fisicoquímico y microbiológico de la materia prima.

### **3.2.3. Análisis fisicoquímico del fruto del níspero**

#### **3.2.3.1. Determinación de grados Brix**

Se pesó 10g de la pulpa de níspero de la que se obtuvo una muestra la cual se colocó en el refractómetro para la medida de los °Brix, esta medida se realizó por triplicado. (Alfa, 1994).

### 3.2.3.2. Acidez titulable

**Método:** Acidez titulable (A.O.A.C. 2005)

**Procedimiento:** Se pesó 10g de pulpa de níspero, se trituro hasta obtener el cremogenado, luego se aforó a 250ml de agua destilada, se tomo un volumen de 20ml para nuevamente aforar a 100ml, luego se separo en tres alícuotas de 30ml para la correspondiente titulación por triplicado previa adición de tres gotas de solución de fenolftaleína, finalmente se tituló con NaOH 0.1N en agitación, anotando el volumen gastado del hidróxido de sodio.

#### Cálculos

Los resultados se expresaron en porcentaje de acidez (expresado en acido cítrico), teniendo en cuenta el factor de dilución:

$$\% \text{ de acidez} = \frac{V1 \cdot N \cdot \text{meq} \cdot f}{V2} \times 100 \text{----- Ecuación (1)}$$

**Siendo:**

V1 = volumen de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N utilizados en la valoración

N = normalidad del hidróxido de sodio

Meq. = miliequivalente del acido cítrico (0.07)

f = factor de dilución de la muestra

V2 = volumen de muestra tomada

### 3.2.3.3. Determinación del índice de madurez

Se realizaron las pruebas para determinar los °Brix con ayuda del refractómetro y acidez titulable por medio de titulación con NaOH 0.1N, para el estado de madurez

del fruto fresco, y finalmente se determino el valor de índice de madurez con la relación (°Brix / Acidez titulable) (Angón, 2004).

Para la determinación del índice de madurez se obtuvo primero el ° Brix de la pulpa de níspero y la acidez titulable para ser determinado por la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de madurez} = \frac{\text{°Brix}}{\text{acidez titulable}} \text{----- Ecuación (2)}$$

#### 3.2.3.4. Determinación de pH

**Método:** potenciométrico (A.O.A.C. 2005)

**Procedimiento:** Se preparó la muestra como se indica en la metodología anterior para medir el porcentaje de acidez. Teniendo las muestras en alícuotas de 30ml, se calibró el potenciómetro e inmediatamente se colocó el electrodo para medir el pH, se esperó que el registro numérico en la pantalla del pH-metro se estabilice por completo, entonces se registró el pH de la pulpa del níspero de palo.

#### 3.2.3.5. Determinación de porcentaje de humedad

**Método:** gravimétrico (A.O.A.C. 2005)

**Procedimiento:** En tres palcas petri, se colocó 10g de muestra (pulpa de níspero) para cada placa, previamente se registró los pesos iniciales de la placa seca y de la muestra en estudio. Luego se colocan las placas petri destapadas y las tapas en la estufa de desecación durante 1 hora a la temperatura  $102 \text{ }^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ . Luego del tiempo transcurrido se colocó la tapa sobre la placa y se llevó al desecador, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se registró el peso, esta operación se repitió por tres veces, hasta que los peso se la muestra sea constante (no difieran en más de 0.0005g).

Calcular la humedad mediante la siguiente fórmula siguiente:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{M_1 - M_2}{M_3} \times 100 \quad \text{----- Ecuación (3)}$$

**Donde:**

M1: masa inicial en gramos, de la placa seca mas la muestra.

M2: masa final, en gramos, de la placa y su tapa más la muestra.

M3: masa, en gramos, de la muestra utilizada para el análisis.

### 3.2.3.6. Determinación de azúcares reductores

**Método:** Volumétrico de Lane y Eynon (A.O.A.C. 2005)

**Fundamento:** Propiedad de los azúcares de la muestra de reducir el cobre de la solución Fehling en proporción volumétrica y formación del óxido cuproso en solución alcalina cuprosa.

**Preparación de la muestra:** Se pesó 75g de pulpa de níspero (w) triturarlo en un mortero y homogenizar con 100ml de agua. Se transfirió a un balón de 500ml, diluyéndolo con agua hasta el aforo (d) y se filtro.

**Clarificación:** Se transfirió una alícuota (c) de 25ml a un balón volumétrico de 250ml. Se diluyo con aproximadamente 100ml de agua. Se agrego 1 a 2 ml de solución de acetato de plomo, luego se mezcló y enrazó el balón. Se filtro y se descarto las primeras porciones, el filtrado debe ser completamente transparente.

**Titulación:** En un matraz erlenmeyer de 250ml se colocó 5ml de solución de Fehling A y 5ml de Fehling B. se diluyo hasta 40ml con agua, calentar hasta ebullición.

Se tituló con la solución clarificada y filtrada, colocada en una bureta hasta que el color azul se haga muy tenue (se aprecia la formación de un precipitado rojo óxido cuproso).

Entonces se agregó 1ml de azul de metileno al 0.2% (3 a 4 gotas).

Se calculó los azúcares reductores presentes en 100ml de la solución problema. Estos cálculos se facilitan mediante el uso de tablas especiales. El manual de métodos AOAC (1975), presenta tablas de equivalencia para diferentes azúcares, cuando se utilizan 10 o 25ml de la solución de Fehling. El número de miligramos del azúcar indicado en la tabla (Factor de equivalencia) y se calcula porcentualmente así:

$$\text{mg de azúcar en 100ml} = \frac{\text{factor de equivalencia}}{\text{ml gastado}} \times 100 \text{-----Ecuación (4)}$$

Para calcular el porcentaje de azúcares reductores en la muestra original (pulpa de níspero) aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Azúcares reductores (\%)} = \frac{F \times b \times d \times 100}{a \times w \times c \times 1000} \text{-----Ecuación (5)}$$

Donde:

F: factor de equivalencia (mg de azúcar que reducen 10ml de solución de fehling)

ejemplo: 47.5 mg de glucosa.

a: ml solución problema (filtrado) gastados para titular la solución de Fehling ( para 10ml).

b: volumen a que se llevo la solución de azúcares durante la clarificación.

c: alícuota tomada de la solución de azúcares para la clarificación.

d: volumen a que se llevo la muestra original.

W: peso de la muestra original.

Si se ajusta la técnica específicamente a los volúmenes estipulados en el procedimiento, la formula se abrevia de la siguiente manera:

$$\text{Azúcares reductores (\%)} = \frac{F \times 250 \times 500 \times 100}{a \times w \times 25 \times 1000} \text{----- Ecuación (6)}$$

$$\text{Azúcares reductores (\%)} = \frac{F \times 500}{a \times w} \text{----- Ecuación (7)}$$

### 3.2.3.7. Determinación de azúcares totales

**Método:** Volumétrico de lane y Eynon (A.O.A.C. 2005)

**Fundamento:** Propiedad de los azúcares de la muestra de reducir el cobre de la solución Fehling en proporción volumétrica y formación del oxido cuproso en solución alcalina cuprosa.

Se transfirió con una pipeta volumétrica, 50ml de filtrado clarificado, a un balón volumétrico de 100ml. Se agregó 5ml de HCl 1:1.

Luego se calentó a 70°C durante 5min, se dejo enfriar a temperatura ambiente y se neutralizo con NaOH 1N, usando fenolftaleína como indicador, se diluyo con agua hasta la señal de enrase.

Se titula y calcula el porcentaje de azúcares totales, siguiendo el mismo procedimiento señalado para azúcares reductores pero multiplicando el resultado final por 2 para compensar la dilución adicional (100/50ml).



### **3.2.4. Análisis microbiológico del fruto del níspero**

Teniendo en cuenta que las muestras provienen desde la provincia de Andahuaylas, se realizó el análisis microbiológico con la finalidad de identificar los microorganismos presentes en los frutos del níspero como flora natural y también aquellos que pudieran abarse incorporados al fruto en el transporte.

Se realizó tres tipos de análisis microbiológicos para evaluar el estado sanitario de la materia prima (níspero de palo).

#### **3.2.4.1. Determinación de mohos y levaduras**

Este análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial utilizando el método descrito en el anexo 2.

#### **3.2.4.2. Determinación de aerobios mesófilos**

Este análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial utilizando el método descrito en el anexo 2.

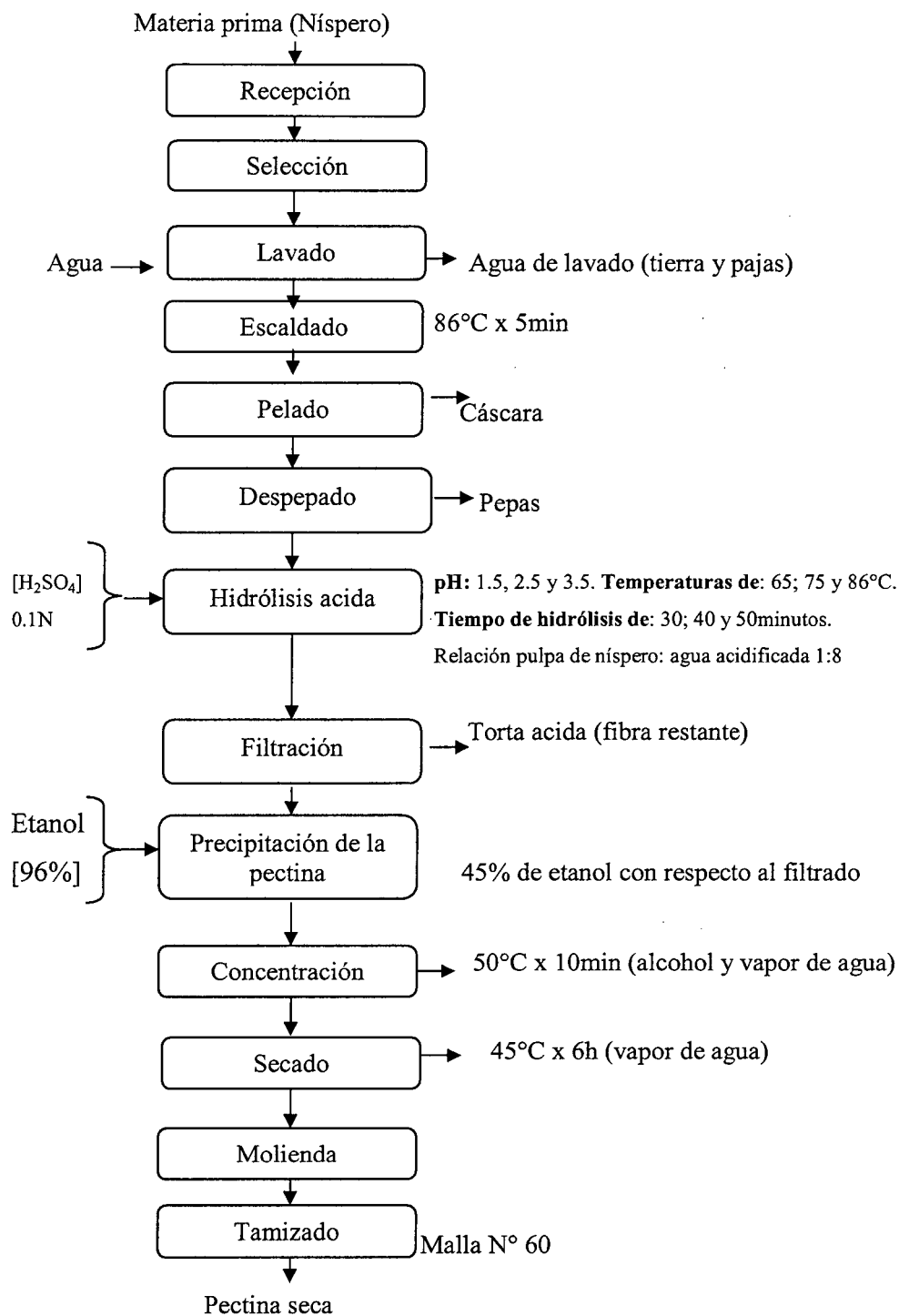
#### **3.2.4.3. Determinación de coliformes**

Este análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial utilizando el método descrito en el anexo 2.

Seguidamente se muestra la figura 7, la que define el diagrama general de las operaciones para la obtención de pectina del níspero de palo:

### 3.2.5. Obtención de la pectina de la pulpa del níspero de palo

Se utilizó el siguiente diagrama de flujo para la extracción de pectina.



**Figura 7.** Diagrama de flujo para la obtención de pectina de níspero de palo.

La descripción de las operaciones para la obtención de pectina de níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), se muestran a continuación:

**Recepción:** La materia prima se obtuvo de la provincia de Andahuaylas, la misma se recibió en las instalaciones del Laboratorio de Química de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, previa verificación del peso y calidad del producto.

**Selección:** Se seleccionaron los frutos de níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), en función al estado de madurez (verdes, pintones y sobre maduros), de los que se eligió los frutos pintones del mismo modo se descartó frutos con signos de picaduras y de enfermedades. El estado intermedio de madurez de los frutos pintones es de importancia para el proyecto de investigación.

**Lavado:** Se realizó el lavado con la finalidad de retirar cualquier tipo de materia extraña (polvo, paja, etc.) que pudieran estar presentes con los frutos. Para tal efecto se utilizó agua potable y escobillada para retirar impurezas adheridas a la superficie del fruto.

**Escaldado:** el objetivo en esta operación es inactivar las enzimas como la polifenoloxidasas causante del pardeamiento enzimático y eliminar microorganismos (mohos y levaduras silvestres) que vienen como flora natural del fruto, al mismo tiempo el escaldado facilita la operación de pelado de la cascara. Se realizó la operación de escaldado a 86°C durante 5min.

**Pelado:** De forma manual empleando un cuchillo se procedió al pelado de la cascara del níspero de palo, a medida que se avanza con la operación se fueron poniendo los frutos pelados en un recipiente con una solución de ácido cítrico (0.005%) con el objetivo de reducir la oxidación enzimática.

**Despepado:** En esta etapa se separó la pulpa de las pepas de los frutos de níspero de palo, con la ayuda de un cuchillo haciendo un corte que permita retirar las pepas, la pulpa adherida a las pepas debe ser retirada en su totalidad para reducir las pérdidas, finalmente se obtuvo la pulpa de níspero para continuar con la hidrólisis acida.

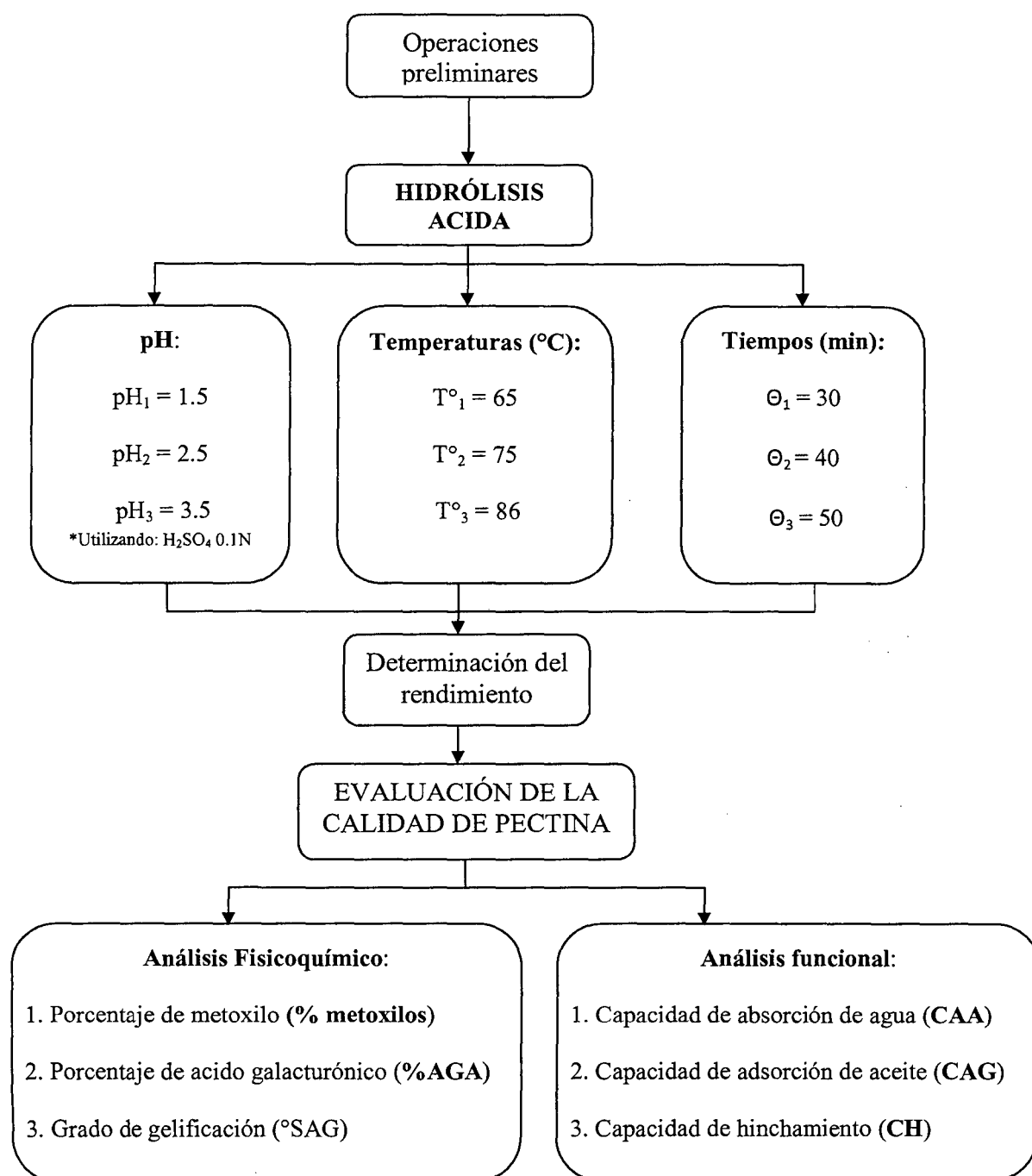
**Hidrólisis acida:** La hidrólisis tiene por objetivo desdoblar la protopectina en pectina para facilitar la extracción de la misma. Las pectinas están consideradas dentro de las fibras hidrosolubles y su extracción es posible por diferentes métodos de hidrólisis, en esta investigación se decidió optar por el método de hidrólisis acida por ser el más adecuado y eficaz para la extracción de pectinas.

La pulpa del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), obtenida en la anterior operación se sometió a hidrólisis acida, manteniendo una relación constante de pulpa: agua acidificada (con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N) de 1:8. Cada tratamiento de extracción se realizó con 50g de pulpa y 400ml de agua acidificada. En la hidrólisis se controló las tres variables que son: pH del agua acidificada (1.5, 2.5 y 3.5), temperaturas (65, 75, 86°C) y tiempo de hidrolisis (30, 40 y 50min), en agitación constante.

El proyecto de investigación centra bastante interés en la operación de hidrólisis, donde se tienen las variables independientes (pH, temperatura y tiempo de hidrolisis).

En esta operación se concentra la solución aproximadamente al 49% quiere decir que de los 450ml (agua acidulada y pulpa de níspero) se obtuvo 220.5ml de solución.

En la figura 8, se muestra el diagrama de la operación de hidrólisis y las etapas siguientes para determinar el rendimiento y evaluar la calidad de pectina extraída del níspero de palo en función a sus propiedades fisicoquímicas y funcionales:



**Figura 8.** Diagrama de flujo de la operación de hidrólisis y evaluación de la pectina

En la tabla 9, se muestra los tratamientos en función a la interacción de las variables en la operación de hidrólisis acida, en donde cada tratamiento tiene tres repeticiones:

**Tabla 9.** Diseño estadístico factorial  $3^3$  para la hidrólisis acida

Tratamientos	Interacción de variables		
	pH	Temperatura(°C)	tiempo (min)
T1	3.5	86	30
T2	1.5	75	40
T3	2.5	65	50
T4	3.5	65	30
T5	1.5	75	30
T6	2.5	65	30
T7	1.5	75	50
T8	2.5	86	50
T9	3.5	75	30
T10	3.5	65	50
T11	2.5	65	40
T12	2.5	75	40
T13	1.5	86	30
T14	3.5	75	40
T15	2.5	86	30
T16	2.5	75	30
T17	3.5	65	40
T18	3.5	86	50
T19	1.5	86	40
T20	1.5	65	50
T21	1.5	65	30
T22	3.5	86	40
T23	1.5	86	50
T24	3.5	75	50
T25	2.5	75	50
T26	1.5	65	40
T27	2.5	86	40

**Fuente:** Elaboración propia 2010.

**Filtración:** Se filtró la solución hidrolizada con ayuda de un tamiz (colador de plástico), para separar la torta (fibra restante) de la solución líquida. Se obtuvo en promedio 178ml de solución filtrada y 42g de torta (fibra restante).

**Precipitación con alcohol:** Se prefieren utilizar alcohol porque las pectinas generalmente se usan en la industria de los alimentos y se deben evitar residuos generados al emplear sales para la precipitación. La pectina presente en la solución líquida anteriormente obtenida se precipitó con etanol de [96%] y un volumen de alcohol equivalente al 45% de la solución líquida. Se utilizó 80ml de alcohol para 178ml de la solución filtrada, la muestra precipitó en su totalidad.

**Concentración:** Se sometió el precipitado de pectina a concentración (temperatura de 50°C por 10min) para reducir el 50% de la carga inicial de agua y facilitar el secado de la misma. La concentración de cada tratamiento se redujo de 178ml hasta 89ml.

**Secado:** El objetivo del secado es eliminar los residuos de alcohol y evaporar el agua libre y ligeramente ligada. Para esta operación se utilizó placas petri cada una contenía en promedio 20g de muestra, las cuales se colocaron en la estufa en una corriente de aire caliente de 45°C por 6 horas.

**Molienda:** Se realizó la operación de molienda en un molino de funcionamiento manual para homogenizar el tamaño de la partícula y mejorar la apariencia de la pectina, logrando obtener partículas muy pequeñas.

**Tamizado:** Esta operación se realizó utilizando un tamiz de malla N°60, por donde atravesaron las partículas de pectina más pequeñas, las que se retienen en el tamiz fueron nuevamente molidas, hasta homogenizar toda la pectina, finalmente se pesó la pectina para calcular el rendimiento. Esta misma pectina fue empleada para realizar la caracterización fisicoquímica y funcional.

### 3.2.6. Determinación del rendimiento de pectina

Se realizó los controles del peso de la materia prima y la pectina extraída, utilizando una balanza con la finalidad de establecer el rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{pectina (g)} \times 100}{\text{pulpa de níspero (g)}} \text{----- Ecuación (8)}$$

### 3.2.7. Caracterización fisicoquímica y funcional de la pectina

Se realizó la caracterización fisicoquímica y funcional de la pectina extraída a partir del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), la caracterización fisicoquímica se fundamentó en el análisis siguiente:

#### 3.2.7.1. Porcentaje de metoxilos

Se realizó para cada tratamiento con 0,5 g de pectina/ 100 ml de agua destilada se titula con NaOH 0,1N (meq A). Luego se añadió 25 ml de NaOH 0,25N, dejándose reposar 30 min, y se agregaron 25 ml de HCl 0.25N; se realizó la titulación con NaOH 0.25N (meq B), (Gierselmer, 1997).

$$\% \text{ metoxilo} = \frac{\text{gasto (ml)} \times \text{Normalidad(3.1)}}{\text{peso muestra (g)}} \text{----- Ecuación (9)}$$

#### 3.2.7.2. Contenido de ácido anhídrido galacturónico(%AGA)

Este análisis se determinó en una muestra de 0.5g de pectina, bajo los principios del método anterior. Es esencial para determinar la pureza y evaluar las propiedades físicas (Gierselmer, 1997). Se utilizó la fórmula siguiente:



$$\% \text{AGA} = \frac{176 \times 100 (\text{meqA} + \text{meqB})}{\text{peso muestra (mg)}} \text{-----Ecuación (10)}$$

Donde:

meq A = miliequivalente del NaOH

meq B = miliequivalente del NaOH

### 3.2.7.3. Grado de gelificación

El grado de gelificación de la pectina son las unidades de peso de azúcar con respecto a una unidad de peso de pectina. En el trabajo de investigación se determinó el grado de gelificación en 5 vasos de precipitados (cap. 100ml) se colocaron 1, 1.2, 1.4, 1.6 y 1.8g de pectina a cada vaso respectivamente, añadiendo 100 ml de una solución de ácido cítrico de pH 3 calentándose hasta disolución, se agregó suficiente sacarosa a cada vaso para que cada uno resulte con 65% de sólidos solubles, completando el volumen a 100 ml con la solución ácida. Se dejó enfriar 5 horas para que gelifiquen. El grado asumido es el correcto, si al momento de invertir los vasos, su contenido sólo se reduce en un 10% de su altura inicial, entonces se divide los gramos de azúcar (65g constante) entre los gramos de pectina del vaso donde se observa una disminución del 10% de su altura inicial (Gierselmer,1997).

### 3.2.7.4. Capacidad de absorción de agua (CAA)

Según la técnica citada por Tamayo y Bermúdez (2002). Se determinó la capacidad de absorción de agua (CAA) colocando 1 gramo de pectina (peso inicial), previamente secada en la estufa durante 30min, en un tubo de base cónica, luego se adicionó un exceso de agua (10 ml) luego se mezcló la muestra con un agitador por 30 minutos. Seguidamente se centrifugó durante 10 minutos a 3000

rpm. luego se retiro el sobrenadante y se peso el sedimento (peso final). Por relación matemática los resultados se expresaron en gramos de agua absorbida por gramo de materia seca (Vilcanqui, 2009).

$$CAA = \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{g de muestra}} \text{-----Ecuación (11)}$$

### 3.2.7.5. Capacidad de adsorción de aceite(CAG)

Este análisis se realizo según lo sugiere Tamayo y Bermúdez, 2002. En un tubo de base cónica se colocó 0.5g de pectina previamente secada en la estufa por 30min, a dicho tubo se adicionó 5 ml de aceite se agitó en el tubo durante 30 min. Posteriormente se centrifugó a 3000 rpm. por 30 min. luego se retiro el sobrenadante y se peso el sedimento. La capacidad de retención de aceite se expresa como los gramos de aceite adsorbida por gramo de muestra seca (Vilcanqui, 2009).

$$CAG = \frac{\text{g de aceite retenido}}{\text{g de muestra}} \text{-----Ecuación (12)}$$

### 3.2.7.6. Capacidad de hinchamiento (CH)

Este análisis se realizó según la técnica citada por Tamayo y Bermúdez (1998). Se colocó 1g de pectina en un tubo de base cónica graduado, después de medir el volumen (Vo) ocupado por la pectina se adicionó un exceso de agua (10 ml) y se agitó por 10min, se dejó en reposo por 24 h luego se midió el volumen final (Vf) de la muestra. Se utilizo la formula siguiente:

$$CH = \frac{Vf(ml) - Vo(ml)}{\text{g de muestra}} \text{-----Ecuación (13)}$$

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Análisis químico proximal de la materia prima (*Mespilus germánica L.*)

Los resultados que se expresan en la tabla 10, son los resultados del promedio por triplicado del análisis químico proximal realizados a los frutos del níspero de palo.

**Tabla 10.** Resultados del análisis químico proximal del níspero de palo

Descripción	Valores **
Humedad (%)	72.68 ±0.83
pH	3.50 ±0.12
Acidez titulable (%) *	0.76 ±0.87
Contenidos de azúcares reductores (%)	4.20 ±0.05
Contenidos de azúcares totales (%)	13.86 ±0.08
Grados Brix (°Brix)	5.3 ±0.87
Índice de madurez	6.97 ±0.18

\* Expresado en ácido cítrico.

\*\*Media ± Desviación estándar, n=3.

##### 4.2. Análisis microbiológico de la materia prima (*Mespilus germánica L.*)

**Tabla 11.** Resultados del análisis microbiológico del níspero de palo

Microorganismos	Recuento (Ufc/ml)
Mohos y levaduras	5.4 x 10 <sup>3</sup>
Aerobios mesófilos	4.2 x 10 <sup>3</sup>
Coliformes	Ausente

Los resultados del análisis químico proximal (Tabla 10) de la materia prima (*Mespilus germanica* L.), muestran humedad de  $72.68 \pm 0.83\%$ , pH de  $3.50 \pm 0.12$ , acidez titulable de  $0.76 \pm 0.87\%$ , azúcares reductores de  $4.20 \pm 0.05\%$ , azúcares totales  $13.86 \pm 0.08\%$ , grados brix de  $5.3 \pm 0.87$  e índice de madurez de  $6.97 \pm 0.18$ , realizados en el laboratorio de química, pueden ser comparados con estudios realizados por Vargas y Pisfil (2008), (tabla 2) los cuales reportan en el análisis químico proximal del níspero de palo un contenido de azúcares reductores de 3.82%, azúcares totales 12.06%, los mismos que resultan ser menores comparados con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Estas diferencias pueden ser atribuidas al grado de madurez de la muestra en estudio y la riqueza de los suelos donde crecieron los frutos del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.). En general en los frutos a medida que continua su proceso de maduración aumenta la sintetización de sus azúcares y por tanto la disminución del contenido de pectina por ello la importancia del análisis químico proximal para determinar específicamente los contenidos de azúcar y el estado de madurez de los frutos del níspero de palo.

Los resultados del análisis microbiológico (tabla 11) muestran presencia de mohos y levaduras  $5.4 \times 10^3$  ufc/ml, aerobios mesófilos de  $4.2 \times 10^3$  ufc/ml y ausencia de coliformes. Es importante conocer los microorganismos y sus niveles de población dentro de cualquier materia prima, el análisis microbiológico a los frutos del níspero de palo tiene gran importancia en este nuevo siglo XXI donde el lenguaje común es calidad total, y por tanto la inocuidad es primordial para garantizar la salud pública y permitir la importación de insumos.

#### 4.3. Rendimiento de la extracción de la pectina del níspero de palo

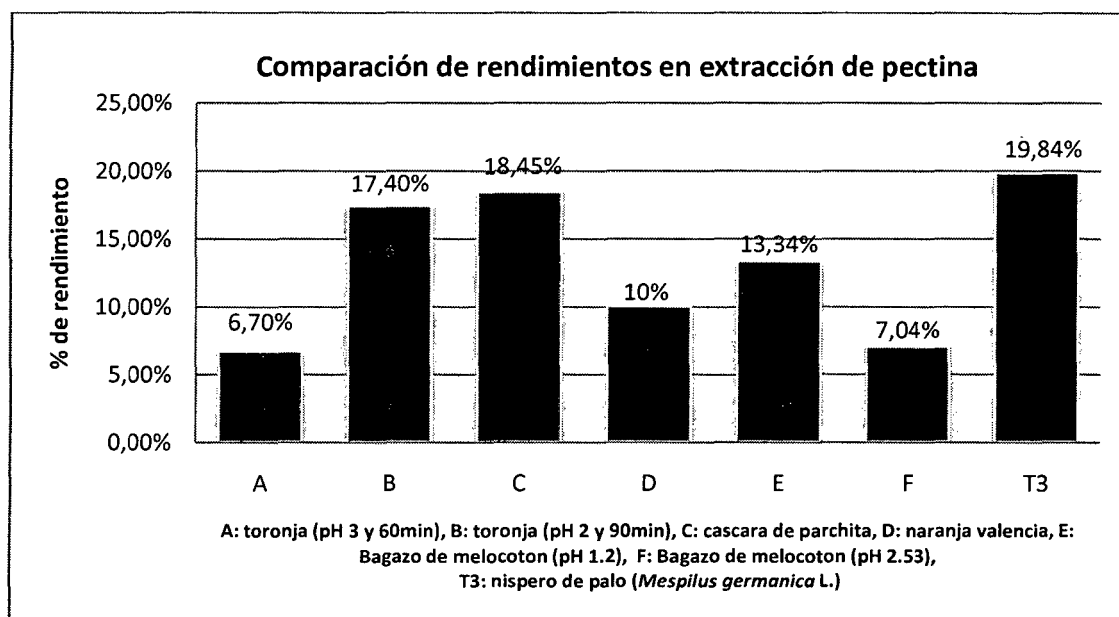
En la tabla 12, se muestran los resultados obtenidos de la extracción de pectina por los diferentes tratamientos.

**Tabla 12.** Resultados de la extracción de pectina de níspero de palo (*Mespilus germánica* L.) con cada tratamiento

Rendimiento		
Tratamientos	g de pectina *	%
T1	9.79 ± 0.16	19.58
T2	10.23 ± 0.15	20.46
T3	9.7 ± 0.77	19.84
T4	9.68 ± 0.35	19.36
T5	10.2 ± 0.26	20.4
T6	9.9 ± 1.04	19.8
T7	10.23 ± 0.12	20.46
T8	10.01 ± 0.55	20.02
T9	9.72 ± 0.71	19.44
T10	9.92 ± 1.1	19.4
T11	9.92 ± 0.75	19.84
T12	9.96 ± 0.14	19.92
T13	10.24 ± 0.72	20.48
T14	9.73 ± 1.15	19.46
T15	9.99 ± 0.13	19.98
T16	9.95 ± 0.71	19.9
T17	9.65 ± 0.95	19.3
T18	9.89 ± 0.71	19.78
T19	10.35 ± 0.93	20.7
T20	10.19 ± 0.95	20.38
T21	10.1 ± 0.71	20.2
T22	9.83 ± 0.14	19.66
T23	10.5 ± 0.85	21
T24	9.74 ± 0.71	19.48
T25	9.97 ± 0.91	19.94
T26	10.13 ± 0.13	20.26
T27	10.04 ± 0.71	20.08

\*Media ± Desviación estándar, n=3.

Los resultados en rendimiento de extracción de pectina a partir de pulpa del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), en la tabla 12, por el método de hidrólisis ácida (con  $H_2SO_4$  0.1N), muestra que con el tratamiento veinte tres (T 23) se obtiene un rendimiento máximo de 21% y con el tratamiento diecisiete (T 17) un rendimiento mínimo de 19.3%. El análisis de varianza (Tabla 13) permite obtener información de la significancia de las variables con respecto a las medias del rendimiento, donde el pH y temperatura son variables altamente significativas. De otro lado el rendimiento con el tratamiento tres (T 3) puede ser comparada con las muestras de la figura 9.



**Fuente:** Elaboración propia (con datos de la tabla 7)

**Figura 9.** Rendimiento de la extracción de pectina del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), comparada con otros productos.

Comparando los valores en rendimiento de extracción de pectina del níspero de palo con otros productos estudiados (Figura 9), la extracción por el tratamiento tres (T3) con el cual se obtuvo igual a 19.84% (en base húmeda), tiene un valor superior a las demás muestras, seguido muy de cerca por la pectina extraída de la cascara de

parchita con 18.45%, toronja (a pH 2 y 90min de extracción) con 17.40%, bagazo de melocotón (a pH de 1.2) con 13.34%, naranja valencia con 10%, bagazo de melocotón (a pH de 2.53) con 13.34% y finalmente toronja (a pH 3 por 60min) con 6.7% de rendimiento.

Devia (2003), obtuvo una pectina de calidad y buenas características de gelación por una extracción en medio ácido con un pH 2 y tiempo de hidrólisis de 40min. El rendimiento de extracción de pectina de la casca de naranja valencia alcanzó el 10%.

Vásquez (2008), afirma que es posible obtener pectina con buenas propiedades gelificantes a partir de cáscara de plátano verde con un rendimiento de  $7,65 \pm 1,41\%$ , mediante extracción en medio ácido a pH 3,0; a una temperatura de 85°C y un tiempo de 60 minutos.

Camejo de Aparicio (1996), basado en sus resultados, afirma que por el método de hidrólisis ácida a condiciones de pH 2, a temperatura de 90°C y durante un tiempo de hidrólisis de 90 minutos, se observa que las condiciones de extracción influyen marcadamente en el rendimiento. El calentamiento a pH 2 aumentó significativamente ( $P < .05$ ) el rendimiento con respecto al calentamiento a pH 3. Se observó también un aumento del rendimiento con un tiempo de calentamiento de 90 min., aunque no fue significativo ( $P > .05$ ), obteniéndose un rendimiento más alto en extracción de pectina de la corteza seca de la toronja de 17.4%.

En la siguiente tabla 13, se tiene el análisis de varianza (ANOVA) para el rendimiento de pectina, esta tabla permite evaluar el nivel de significancia de las variables (pH, temperatura y tiempo) y sus interacciones respectivas:

**Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) para rendimiento de pectina**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	1.08978	1	1.08978	713.18	0.0000	**
B:Temperatura	0.115681	1	0.115681	75.70	0.0000	**
C:tiempo	0.0191427	1	0.0191427	12.53	0.0025	*
AA	0.00629424	1	0.00629424	4.12	0.0584	N.S
AB	0.00285208	1	0.00285208	1.87	0.1897	N.S
AC	0.00460208	1	0.00460208	3.01	0.1008	N.S
BB	0.00249424	1	0.00249424	1.63	0.2186	N.S
BC	0.00512533	1	0.00512533	3.35	0.0846	N.S
CC	0.0000689074	1	0.0000689074	0.05	0.8344	N.S
Error total	0.025977	17	0.00152806			
Total (corr.)	1.27202	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

R-cuadrada = 97.96%

CV=0.39% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 13 del ANOVA para el rendimiento de pectina, donde los dos factores que tienen influencia altamente significativa sobre las medias del rendimiento de pectina son: el pH del medio y la temperatura, sin embargo el tiempo solo tiene una influencia significativa. Por otro lado la interacción de los factores no presenta influencia significativa.

Estos resultados confirman el rendimiento de la pectina obtenida a partir de la manzana, donde que los factores de influencia altamente significativa son la temperatura y el pH (Silva, 2003). Por lo que se afirma que para un proyecto de extracción de pectina se debe considerar la relevada importancia de los factores de mayor influencia, los cuales son el pH y la temperatura de hidrólisis.



#### 4.4. Caracterización fisicoquímica de la pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica L.*)

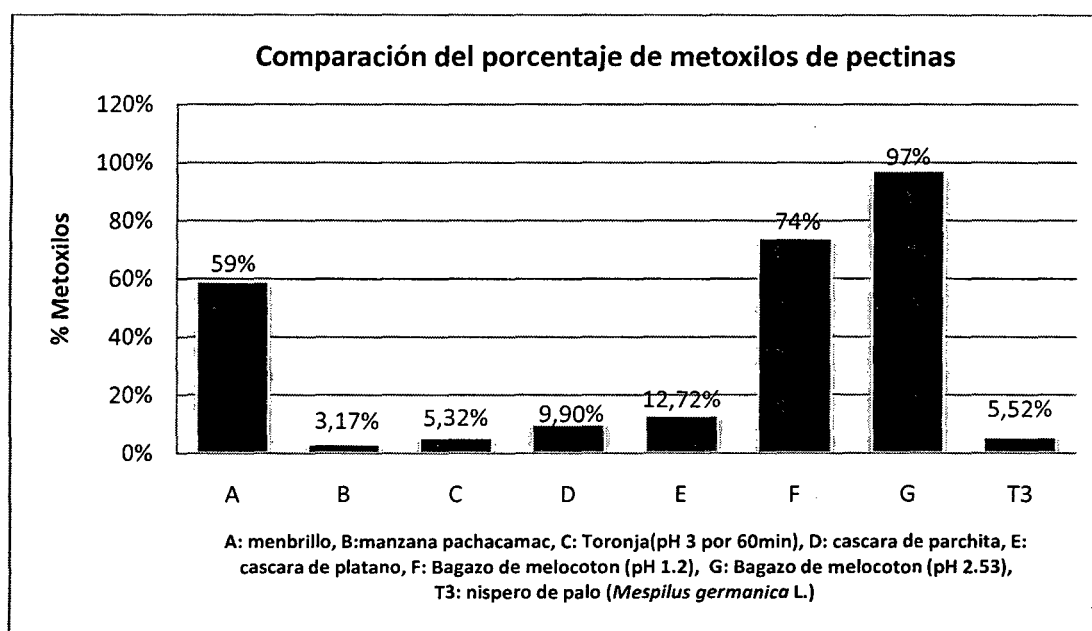
En la tabla 14, se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica realizada a la pectina extraída del níspero de palo.

**Tabla 14.** Resultados de la caracterización fisicoquímica de la pectina extraída del níspero de palo (*Mespilus germánica L.*) con cada tratamiento

Tratamientos	Análisis fisicoquímico		
	%Metoxilos	%AGA	°SAG
T1	5.51 ± 0.09	74.11 ± 0.06	51.59 ± 4.47
T2	4.44 ± 0.05	68.5 ± 0.08	39.55 ± 5.96
T3	5.52 ± 0.04	74.24 ± 0.07	65.00 ± 0.00
T4	4.51 ± 0.03	72.54 ± 0.10	57.78 ± 6.25
T5	4.45 ± 0.12	68.7 ± 0.12	37.62 ± 2.61
T6	4.49 ± 0.06	68.91 ± 0.12	42.99 ± 5.96
T7	4.46 ± 0.09	68.6 ± 0.07	39.55 ± 5.96
T8	4.51 ± 0.03	72.47 ± 0.10	49.01 ± 4.47
T9	5.27 ± 0.06	73.61 ± 0.08	57.78 ± 6.25
T10	4.46 ± 0.02	69.05 ± 0.04	42.56 ± 3.35
T11	4.45 ± 0.11	68.98 ± 0.12	42.99 ± 5.96
T12	4.43 ± 0.06	69.19 ± 0.04	51.59 ± 4.47
T13	4.43 ± 0.06	68.7 ± 0.07	37.62 ± 2.61
T14	5.37 ± 0.13	74.16 ± 0.07	57.78 ± 6.25
T15	4.41 ± 0.03	71.33 ± 0.10	49.01 ± 4.47
T16	4.47 ± 0.03	69.12 ± 0.06	47.08 ± 6.79
T17	5.52 ± 0.09	74.21 ± 0.12	61.39 ± 6.25
T18	5.5 ± 0.11	73.56 ± 0.04	51.59 ± 4.47
T19	4.41 ± 0.04	68.77 ± 0.08	39.12 ± 2.61
T20	4.48 ± 0.06	68.3 ± 0.08	37.62 ± 2.61
T21	4.51 ± 0.06	68.2 ± 0.11	36.11 ± 0.00
T22	5.48 ± 0.09	74.12 ± 0.06	49.01 ± 4.47
T23	4.4 ± 0.12	68.84 ± 0.10	37.62 ± 2.61
T24	5.51 ± 0.08	74.14 ± 0.09	57.78 ± 6.25
T25	4.41 ± 0.10	70.26 ± 0.06	47.08 ± 6.79
T26	4.42 ± 0.11	71.4 ± 0.10	37.62 ± 2.61
T27	4.42 ± 0.05	68.4 ± 0.09	49.01 ± 4.47

\*Media ± Desviación estándar, n=3.

Los resultados del análisis fisicoquímico de la pectina extraída a partir de pulpa del níspero, por el método de hidrólisis acida (con  $H_2SO_4$  0.1N), muestra que el tratamiento tres (T3) a condiciones de pH 2.5; temperatura de  $65^\circ C$  por 50min, con el que se obtuvo pectina con un porcentaje de metoxilos de 5.52%, porcentaje de ácido galacturónico de 74.24%, y grado de gelificación de  $65^\circ$  SAG. El porcentaje de metoxilos puede ser comparado con las muestras de la figura 10.

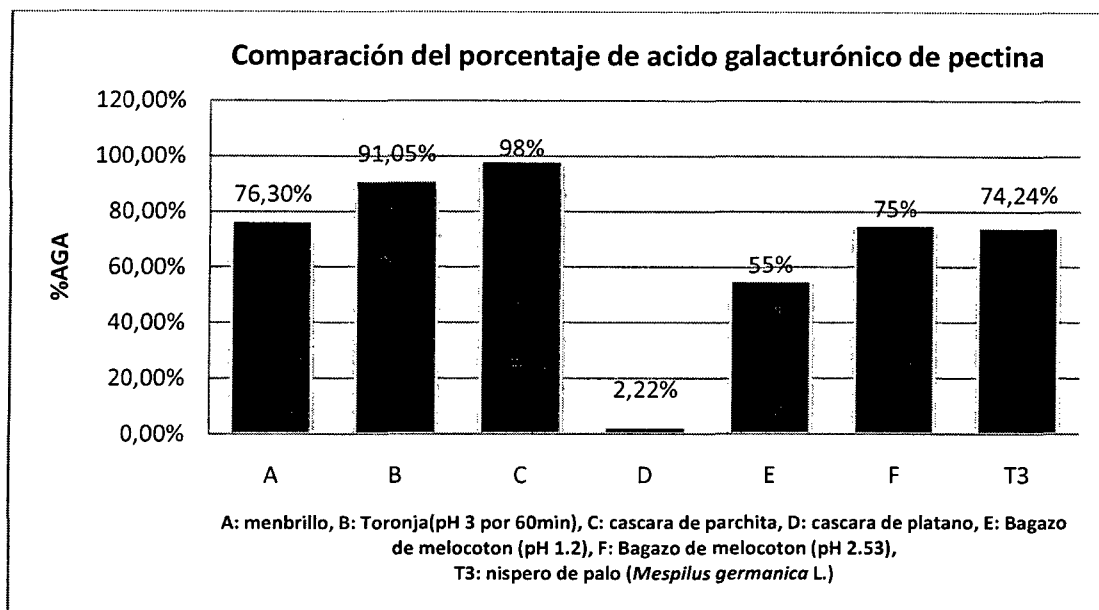


**Fuente:** Elaboración propia (con datos de la tabla 7).

**Figura 10.** Porcentaje de metoxilos de pectina del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), comparada con otros productos.

Comparando los valores del porcentaje de metoxilos de la pectina del níspero de palo con otros productos estudiados (Figura 10), la extracción por el tratamiento tres (T3) con el que se obtuvo un porcentaje de metoxilos de 5.52%, el cual presenta un valor superior a la pectina de manzana variedad pachacamac que tiene 3.17%, y toronja (a pH3 por 60min de extracción) con 5.32%. Siendo superado por la pectina del membrillo con 59%. Por otro lado comparado con la pectina del bagazo del

melocotón (Pagan y Gilabert, 1998), con 97% de metoxilos que supera ampliamente al producto en estudio. Por otro lado el porcentaje de ácido galacturónico puede ser comparado con las muestras de la figura 11.



**Fuente:** Elaboración propia (con datos de la tabla 7).

**Figura 11.** Porcentaje de ácido galacturónico (%AGA) de pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), comparada con otros productos.

En la figura 11, el tratamiento tres (T3) con el que se obtuvo 74.24% de AGA en la pectina del níspero de palo se comparó con otros productos, el cual es ampliamente superior a la pectina de plátano que tiene 2.22%, y bagazo de melocotón (a pH 1.2 por 60min) con 55%. Siendo superado por la pectina del menbrillo con 76.3%, pectina de toronja (a pH 3 por 60min) con 91.05% de metoxilos. Por otro lado comparado con la pectina de la cascara de parchita (Addosio *et al.*, 2005), con 98% de ácido galacturónico que supera ampliamente al producto en estudio.

En lo que respecta a los grados SAG, con el tratamiento tres (T3) la pectina del níspero obtuvo 65°SAG, clasificándose como pectina de bajo metoxilo.

Silva (2003), realizó el análisis fisicoquímico de pectina extraída de manzana variedad pachacamac a condiciones de pH 1.6; temperatura de 90°C por 75min , obteniendo pectina de alto metoxilo con 150°SAG.

Camejo de Aparicio (1996), realizó un estudio para la extracción de pectina de toronja. La pectina extraída a condiciones de pH igual a 3 por 60 min. de hidrolisis y obtuvo pectina de mejor calidad con ( % de metoxilos de 5.32% y 91.05% de AGA), la pectina se caracterizó como una pectina de bajo metoxilo lo que implica una capacidad baja de gelificación. La pectina de menor calidad se obtuvo a condiciones de pH igual a 2 por 90 min. de hidrolisis registrando un % de metoxilos de 4.57% y 81.65 % de AGA.

Ramirez (2009), obtuvo pectina de membrillo (*Cydonia oblonga* Mill), con ácido clorhídrico, y precipitada con etanol, presentó un grado de metoxilo de 59 %, clasificándose como una pectina de alto metoxilo. La combinación de mezcla de pectina de membrillo y proteína de lactosuero produjo emulsiones aceite-agua estable; mientras que la pectina de membrillo sola produjo emulsiones aceite-agua inestable.

Los resultados de los diversos estudios son evidentes, demostrando que una pectina extraída a pH muy bajo, temperaturas muy elevadas y tiempos de hidrólisis muy prolongados, tienen efecto directo en las propiedades fisicoquímicas de la pectina tal es así que el porcentaje de metoxilos, porcentaje de ácido galacturónico(% AGA) y el grado de gelificación disminuyen notablemente.

En las siguientes tablas 15, 16 y 17, se tiene el análisis de varianza (ANOVA) para la caracterización fisicoquímica, dichas tablas permiten evaluar la influencia de las variables (pH, temperatura y tiempo) y sus interacciones:

**Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de metoxilos**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	3.72645	1	3.72645	138.20	0.0000	**
B:Temperatura	0.0280056	1	0.0280056	1.04	0.3224	N.S
C:tiempo	0.08	1	0.08	2.97	0.1031	N.S
AA	1.212	1	1.212	44.95	0.0000	**
AB	0.102675	1	0.102675	3.81	0.0677	N.S
AC	0.138675	1	0.138675	5.14	0.0367	*
BB	0.000668519	1	0.000668519	0.02	0.8767	N.S
BC	0.0660083	1	0.0660083	2.45	0.1361	N.S
CC	0.00622963	1	0.00622963	0.23	0.6369	N.S
Error total	0.458382	17	0.0269637			
Total (corr.)	5.8191	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 92.12%

CV=3.46% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 15 del ANOVA para el porcentaje de metoxilos, donde los dos factores que tienen influencia altamente significativa en las medias del porcentaje de metoxilos son: el pH del medio y la interacción AA. Sin embargo la interacción AC solo tiene influencia significativa. De otro lado la interacción de las demás variables no tienen influencia significativa.

Estos resultados confirman el porcentaje de metoxilos de 3.17% obtenida en la pectina de manzana, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH (Silva, 2003). Por lo que se afirma que para un proyecto de extracción de pectina se debe considerar la relevada importancia de pH como factor de influencia altamente significativa en el contenido final del porcentaje de metoxilos en la pectina.

**Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) % de ácido galacturónico (% AGA)**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	110.906	1	110.906	88.86	0.0000	**
B:Temperatura	1.445	1	1.445	1.16	0.2970	N.S
C:tiempo	0.712022	1	0.712022	0.57	0.4604	N.S
AA	15.8763	1	15.8763	12.72	0.0024	**
AB	0.760033	1	0.760033	0.61	0.4459	N.S
AC	0.0645333	1	0.0645333	0.05	0.8228	N.S
BB	0.0522667	1	0.0522667	0.04	0.8403	N.S
BC	0.116033	1	0.116033	0.09	0.7641	N.S
CC	0.0192667	1	0.0192667	0.02	0.9026	N.S
Error total	21.2167	17	1.24804			
Total (corr.)	151.168	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 85.96%.

CV=1.60% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 16 del ANOVA para el porcentaje de ácido galacturónico, donde los dos factores que tienen mayor influencia significativa en las medias del porcentaje de ácido galacturónico son: el pH del medio y la interacción AA. Por otro lado la interacción de las demás variables no tiene influencia significativa.

Estos resultados confirman el porcentaje de ácido galacturónico de 81.65% obtenida en la pectina de toronja, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH (Camejo de Aparicio, 1996). Por lo que se afirma que para un proyecto de extracción de pectina se debe considerar la relevada importancia de pH como factor de influencia altamente significativa.

Tabla 17. Análisis de varianza (ANOVA) para grado de gelificación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	1554.4	1	1554.4	167.69	0.0000	**
B:Temperatura	6.10169	1	6.10169	0.66	0.4284	N.S
C:tiempo	5.81405	1	5.81405	0.63	0.4393	N.S
AA	1.66778	1	1.66778	0.18	0.6768	N.S
AB	102.025	1	102.025	11.01	0.0041	*
AC	1.1907	1	1.1907	0.13	0.7245	N.S
BB	21.3822	1	21.3822	2.31	0.1472	N.S
BC	5.74083	1	5.74083	0.62	0.4421	N.S
CC	2.13209	1	2.13209	0.23	0.6376	N.S
Error total	157.58	17	9.2694			
Total (corr.)	1858.04	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 91.52%.

CV=6.45% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 17 del ANOVA para el grado de gelificación de la pectina, donde el factor que tiene influencia altamente significativa en las medias del grado de gelificación de pectina es el pH del medio. Sin embargo la interacción AB solo tiene influencia significativa. De otro lado la interacción de las demás variables no tienen influencia significativa.

Estos resultados confirman el grado desedificación de 150° SAG obtenida en la pectina de manzana, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH (Silva, 2003). Por lo que se afirma que para un proyecto de extracción de pectina se debe considerar la relevada importancia de pH como factor de influencia altamente significativa en el grado de gelificación final de la pectina.

#### 4.5. Caracterización funcional de la pectina del níspero de palo (*Mespilus germánica L.*)

En la tabla 18, se muestran los resultados de la caracterización funcional realizada a la pectina extraída del níspero de palo.

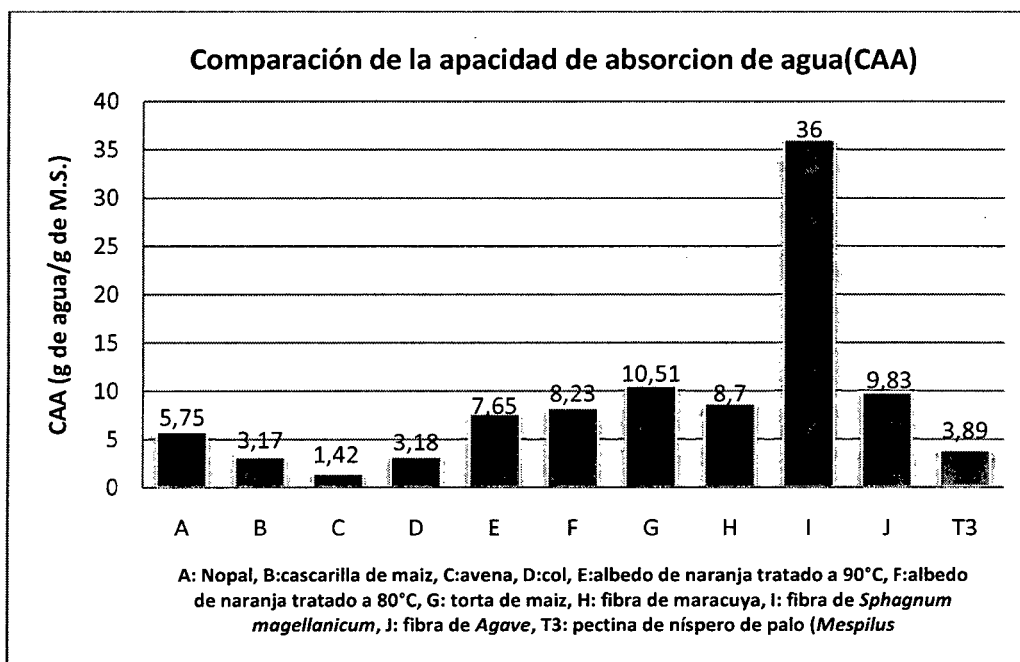
**Tabla 18.** Resultados de la caracterización funcional de la pectina extraída del níspero de palo (*Mespilus germánica L.*) con cada tratamiento

Tratamientos	Análisis funcional		
	CAA (g/g)	CAG (g/g)	CH (ml/g)
T1	3.84 ± 0.11	1.62 ± 0.04	3.85 ± 0.22
T2	3.57 ± 0.09	1.47 ± 0.09	2.98 ± 0.33
T3	3.89 ± 0.09	1.72 ± 0.04	4.55 ± 0.40
T4	3.73 ± 0.15	1.69 ± 0.11	4.51 ± 0.24
T5	3.55 ± 0.11	1.47 ± 0.03	2.96 ± 0.31
T6	3.65 ± 0.15	1.51 ± 0.14	3.01 ± 0.23
T7	3.55 ± 0.12	1.46 ± 0.03	2.94 ± 0.34
T8	3.51 ± 0.07	1.45 ± 0.07	4.5 ± 0.24
T9	3.88 ± 0.13	1.69 ± 0.03	4.18 ± 0.32
T10	3.66 ± 0.12	1.51 ± 0.12	3.31 ± 0.35
T11	3.68 ± 0.23	1.52 ± 0.07	3.01 ± 0.24
T12	3.62 ± 0.19	1.45 ± 0.19	3.75 ± 0.29
T13	3.54 ± 0.25	1.44 ± 0.06	2.93 ± 0.32
T14	3.87 ± 0.19	1.67 ± 0.17	3.98 ± 0.27
T15	3.53 ± 0.12	1.47 ± 0.06	4.29 ± 0.42
T16	3.64 ± 0.21	1.48 ± 0.04	4.32 ± 0.43
T17	3.73 ± 0.29	1.71 ± 0.22	4.51 ± 0.32
T18	3.82 ± 0.11	1.49 ± 0.04	3.01 ± 0.35
T19	3.53 ± 0.25	1.43 ± 0.14	2.91 ± 0.32
T20	3.59 ± 0.16	1.49 ± 0.04	3.19 ± 0.25
T21	3.66 ± 0.30	1.52 ± 0.27	3.25 ± 0.42
T22	3.82 ± 0.11	1.51 ± 0.04	3.91 ± 0.27
T23	3.53 ± 0.19	1.45 ± 0.10	2.92 ± 0.36
T24	3.86 ± 0.17	1.63 ± 0.04	3.85 ± 0.35
T25	3.58 ± 0.11	1.46 ± 0.11	4.29 ± 0.29
T26	3.62 ± 0.09	1.49 ± 0.04	3.21 ± 0.32
T27	3.51 ± 0.30	1.46 ± 0.04	4.42 ± 0.36

\*Media ± Desviación estándar, n=3.



Los resultados del análisis funcional de la pectina extraída a partir de pulpa del níspero de palo (tabla 18), por el método de hidrólisis ácida (con  $H_2SO_4$  0.1N), muestra que el tratamiento tres (T3) a condiciones de pH 2.5; temperatura de  $65^{\circ}C$  por 50min. Con el cual se obtiene una capacidad máxima de absorción de agua (CAA) de 3.89g de agua/g de pectina; capacidad máxima de adsorción de aceite (CAG) de 1.72ml de aceite/g de pectina; y capacidad máxima de hinchamiento (CH) de 4.55ml /g de pectina. El resultado de la capacidad de absorción de agua (CAA) puede ser comparado con las muestras de la figura 12.



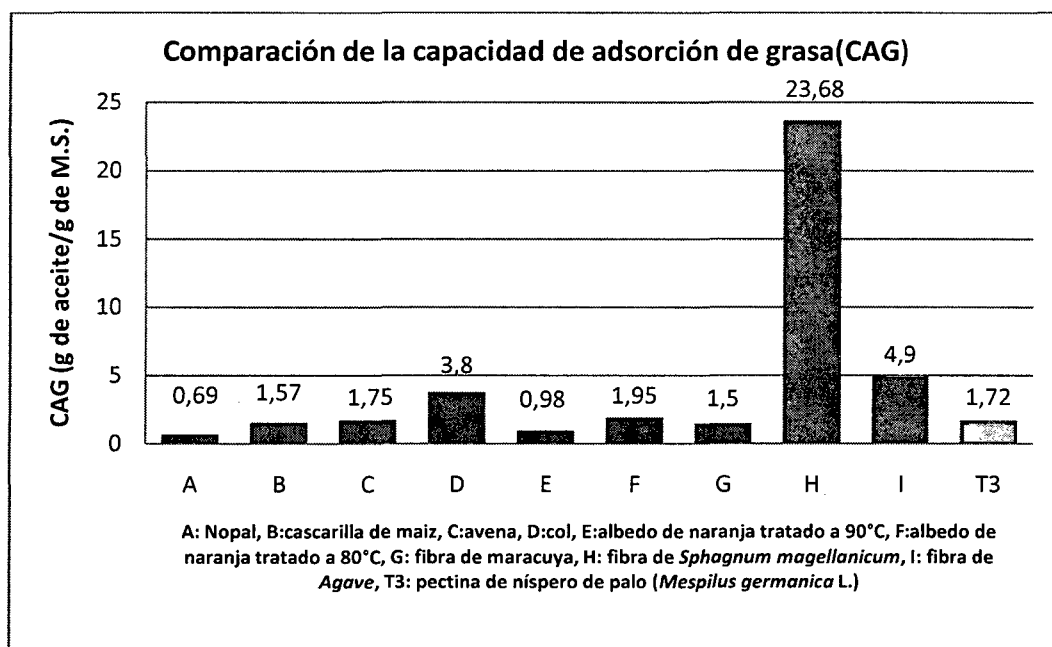
**Fuente:** Elaboración propia (con datos de la tabla 8).

**Figura 12.** Capacidad de absorción de agua (CAA) de la pectina de níspero de palo (*Mespilus germánica* L.), comparada con otros productos.

Comparando los valores de la CAA de la pectina del níspero de palo con otros productos estudiados (Figura 12), la extracción por el tratamiento tres (T3) con el cual se obtuvo una capacidad de absorción de agua (CAA) igual a 3.89, el cual

presenta un valor ampliamente superiores a la cascarilla de maíz que tiene 3.17, avena con 1.42 y la col con 3.18. Siendo superado por la fibra de desecho de naranja con 8.23; torta de maíz con 10.51, fibra de *Agave* con 9.8.

Por otro lado comparado con el valor de fibra de *Sphagnum magellanicum* (musgo) cuyo valor es 36 g de agua/g M.S. (Villarroel, 2003), que supera ampliamente al producto en estudio, resaltando que provienen de un origen distinto al vegetal. Por otro lado la capacidad de adsorción de aceite (CAG) puede ser comparado con las muestras de la figura 13.



**Fuente:** Elaboración propia (con datos de la tabla 8).

**Figura 13.** Capacidad de absorción de agua (CAA) de pectina de níspero de palo (*Mespilus germanica* L.), comparada con otros productos.

Comparando los valores de la capacidad de adsorción de aceite (CAG) de la pectina del níspero de palo con otros productos estudiados (Figura 13), la extracción por el tratamiento tres (T3) con el cual se obtuvo un valor de 1.72 de aceite/g de M.S., el cual solo supera a la cascarilla de maíz que tiene 1.57, fibra de desecho de naranja

con 0.98 y la fibra de maracuyá con 1.5. Siendo superado por la mayoría de fibras, como la fibra de *Agave* con 4.9. Por otro lado es superado ampliamente por la fibra de *Sphagnum magellanicum* (musgo) cuyo valor es 23.68 g de aceite/g M.S. (Villarroel, 2003).

Los valores altos de la capacidad de adsorción del aceite de la fibras que superan al producto en estudio se atribuye al alto contenido de la fibra insoluble, tal como afirma Villarroel (2003); quien argumenta que esta propiedad funcional está relacionada con la composición química, y el tamaño y área superficial de las partículas de fibra y que se ha determinado que las fibras insolubles presentan mayores valores de absorción de moléculas orgánicas que las solubles, tanto por su contenido en lignina como por su mayor tamaño de partícula. Esta afirmación se puede corroborar con los estudios realizados sobre la fibra del nopal y de col, productos que presentan un bajo contenido en fibras insolubles (12.65 y 23.8%) cuyo valor de la CAG fueron de 0.688 y 3.8 respectivamente (Zambrano, 2002).

Resultados obtenidos por (Baquero y Bermúdez, 1998).en el análisis funcional de la fibra obtenida del mango criollo reportan: (CAA =  $3.34 \pm 0.02$  g de agua/g de fibra; CAG =  $1.34 \pm 0.09$  g de aceite/g de fibra; y CH =  $5.80 \pm 0.01$  ml/ g de fibra). En el presente trabajo se realizó el análisis funcional para la capacidad de hinchamiento (CH) de la pectina, con el tratamiento tres (T3) se obtuvo una CH de  $4.55 \pm 0.4$  que mínimamente es superada por la fibra del mango criollo la cual tiene  $5.80 \pm 0.01$  ml/ g de fibra.

En las siguientes tablas 19, 20 y 21, se tiene el análisis de varianza (ANOVA) para la caracterización funcional, dichas tablas permiten evaluar la influencia de las variables (pH, temperatura y tiempo) y sus interacciones:

**Tabla 19. Análisis de varianza (ANOVA) capacidad de absorción de agua (CAA)**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	0.293889	1	0.293889	124.35	0.0000	**
B:Temperatura	0.0186889	1	0.0186889	7.91	0.0120	*
C:tiempo	0.00005	1	0.00005	0.02	0.8861	N.S
AA	0.0613407	1	0.0613407	25.96	0.0001	**
AB	0.0133333	1	0.0133333	5.64	0.0296	*
AC	0.00333333	1	0.00333333	1.41	0.2513	N.S
BB	0.00296296	1	0.00296296	1.25	0.2784	N.S
BC	0.001875	1	0.001875	0.79	0.3855	N.S
CC	0.000224074	1	0.000224074	0.09	0.7619	N.S
Error total	0.0401769	17	0.00236334			
Total (corr.)	0.435874	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 90.78%.

CV=1.33% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 19 del ANOVA para la capacidad de absorción de agua (CAA), donde los dos factores que tienen influencia altamente significativa en las medias de la capacidad de absorción de agua son: el pH del medio y la interacción AA. Sin embargo el tiempo y la interacción AB solo tienen influencia significativa. Por otro lado la interacción de las demás variables no tiene influencia significativa.

Estos resultados confirman la capacidad de absorción de agua de 8.23g de agua/g de pectina, obtenida del albedo de naranja, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH y considera el tamaño de partícula como un factor influyente en la capacidad de absorción de agua (Tamayo y Bermúdez, 2002).

**Tabla 20. Análisis de varianza (ANOVA) capacidad adsorción de aceite (CAG)**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	0.126672	1	0.126672	141.37	0.0000	**
B:Temperatura	0.0392	1	0.0392	43.75	0.0000	**
C:tiempo	0.00293889	1	0.00293889	3.28	0.0878	N.S
AA	0.0327574	1	0.0327574	36.56	0.0000	**
AB	0.00853333	1	0.00853333	9.52	0.0067	*
AC	0.00140833	1	0.00140833	1.57	0.2269	N.S
BB	0.000118519	1	0.000118519	0.13	0.7206	N.S
BC	0.00163333	1	0.00163333	1.82	0.1947	N.S
CC	0.000312963	1	0.000312963	0.35	0.5623	N.S
Error total	0.0152324	17	0.000896024			
Total (corr.)	0.228807	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\*: Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 93.34%

CV=1.96% < 9% (aceptable para investigaciones químicas)

De la tabla 20 del ANOVA para la capacidad de adsorción de aceite (CAG), donde los tres factores que tienen influencia altamente significativa en las medias de la capacidad de adsorción de aceite son: el pH del medio, temperatura y la interacción AA. Sin embargo la interacción AB solo tiene influencia significativa. De otro lado la interacción de las demás variables no tienen influencia significativa.

Estos resultados confirman la capacidad de adsorción de aceite de 1.57g de aceite/g de fibra, obtenida de la fibra de la cascarilla de maíz, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH y la temperatura (Tamayo y Bermúdez, 2002).

**Tabla 21. Análisis de varianza (ANOVA) para capacidad de hinchamiento (CH)**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Valor-P	Sign.
A:pH	4.5602	1	4.5602	16.98	0.0007	**
B:Temperatura	0.00200556	1	0.002005	0.01	0.9321	N.S
C:tiempo	0.0304222	1	0.030422	0.11	0.7406	N.S
AA	0.702696	1	0.702696	2.62	0.1242	N.S
AB	0.304008	1	0.304008	1.13	0.3023	N.S
AC	0.0901333	1	0.090133	0.34	0.5700	N.S
BB	0.027113	1	0.027113	0.10	0.7546	N.S
BC	0.0705333	1	0.070533	0.26	0.6149	N.S
CC	0.00462963	1	0.004629	0.02	0.8971	N.S
Error total	4.56595	17	0.268586			
Total (corr.)	10.3577	26				

\*\* : Influencia altamente significativo, nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

\* : Influencia significativa

N.S. : Influencia no significativa

Nivel de confianza del 95.0%.

R-cuadrada = 55.92%.

CV=14.2% > 9%

De la tabla 21 del ANOVA para la capacidad de hinchamiento de la pectina, donde el factor que tiene influencia altamente significativa en las medias de la capacidad de hinchamiento de la pectina es el pH del medio. Mientras que las otras variables ni sus interacciones no tienen influencia significativa.

Estos resultados confirman la capacidad de hinchamiento de la fibra de maracuyá, donde el factor de influencia altamente significativa es el pH y considera el tamaño de partícula como un factor influyente en la capacidad de hinchamiento (Baquero y Bermúdez, 2002).

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- Se realizó el análisis químico proximal del fruto del níspero (*Mespilus germániga* L.), y se obtuvo: 72.68 % de humedad, pH 3.50, acidez titulable 0.76 %, azúcares reductores 4.2 %, azúcares totales 13.86 %, °Brix 5.3, e índice de madurez de 6.97, estos parámetros nos permiten concluir que la muestra de los frutos de níspero estuvieron en un óptimo estado de madurez. Por otro lado en el análisis microbiológico de los frutos del níspero, se identificó presencia de: mohos y levaduras en  $5.4 \times 10^3$  ufc/ml, aerobios mesofilos en  $4.2 \times 10^3$  ufc/ml y ausencia de coliformes, estos resultados se encuentran dentro de los parámetros permisibles por normas técnicas peruanas, y confirman las buenas prácticas de manufactura (BPM) realizadas en la toma de muestra y su transporte hasta el laboratorio.
  
- El rendimiento óptimo de la extracción de pectina que garantiza las mejores propiedades fisicoquímicas y funcionales en la presente investigación se logró a condiciones de: pH 2.5; temperatura de 65°C por un tiempo de hidrólisis de 50 minutos, obteniendo un rendimiento de 19.84% (b.h.) en pulpa de níspero. En cuanto al análisis de varianza (ANOVA), las variables de mayor influencia significativa en las medias del rendimiento fueron el pH y la temperatura.

- Se realizó el análisis fisicoquímico de la pectina del níspero de palo, del cual se obtuvo que las condiciones óptimas de extracción que garantiza las mejores propiedades fisicoquímicas se lograron extrayendo a condiciones de: pH 2.5; temperatura de 65°C por 50min de hidrolisis. Obteniéndose un porcentaje de metoxilos de  $5.52 \pm 0.04\%$  (pectina de bajo metoxilo), porcentaje de ácido galacturónico (%AGA) de  $74.24 \pm 0.07\%$  y 65°SAG. En cuanto al análisis de varianza (ANOVA), la variable de mayor influencia significativa en las medias de los resultados de la caracterización fisicoquímica fue el pH.
  
- Se realizó el análisis funcional de la pectina del níspero de palo, del cual se obtuvo que las condiciones óptimas de extracción que garantiza las mejores propiedades funcionales se lograron extrayendo a condiciones de: pH 2.5; temperatura de 65°C por 50min de hidrolisis. Obteniéndose una capacidad máxima de absorción de agua de  $3.89 \pm 0.09$  de agua/g de pectina; capacidad máxima de adsorción de aceite de  $1.72 \pm 0.04$ g de aceite/g de pectina; y capacidad de hinchamiento de  $4.55 \pm 0.04$ ml/g de pectina. En cuanto al análisis de varianza (ANOVA), la variable de mayor influencia significativa fue el pH, mientras que la temperatura tuvo una influencia poco significativa en las medias de los resultados de la caracterización funcional.



## 5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la caracterización fisicoquímica en lo que se refiere a los minerales presentes en la pectina extraída del níspero para cumplir con las especificaciones nacionales e internacionales.
  
- Se recomienda elaborar un proyecto de factibilidad técnica económica para la implementación de una planta agroindustrial para la obtención de pectina de níspero de palo (*Mespilus germániga* L.).
  
- Se recomienda la realización de una investigación para obtener fibra de la cascara del níspero y evaluar la capacidad antioxidante de sus componentes asociados a su pigmentación (amarillo) natural del níspero.
  
- Finalmente se recomienda utilizar los residuos fibrosos de la pulpa del níspero, remanentes de la hidrólisis acida, en la obtención de harinas o pastas de uso en la industria alimentaria o en la obtención de concentrados para alimentación animal.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcázar del Castillo J., 2004. Diccionario Técnico de Industrias Alimentarias. 2da edición, Lima – Perú, pp.146-491.
2. Alfa Laval., 1994. Métodos Oficiales de Análisis de los Alimentos. Editorial mundi-prensa libros S.A. Madrid-España, pp. 325-341.
3. Angón, P. y Col., 2006. Índice para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. Universidad Tecnológica de Mixteca: Instituto de Agroindustria, pp. 3-8.
4. A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemist 2005. Official methods of analysis, USA.
5. A.A.C.C. American Association of Cereal Chemist. 1984, Approved methods of the American Association of Cereal Chemist. St Paul MN.
6. Addosio R., 2005. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener). *Rev. Fac. Agron.* [online]. jul. 2005, vol.22, no.3 [citado 21 Septiembre 2010], p.241-251. Disponible en la Web: <<http://www.scielo.org.ve/scielo.php>. ISSN 0378-7818.
7. Baquero y Bermúdez, 1998. Los residuos vegetales de la industria de jugo de maracuyá como fuente de fibra dietética. En temas de tecnología de alimentos. Vol 2, editado por Lajolo. CYTED. Instituto Politécnico Nacional, México 207-214.
8. Burkitt DP, Trowell H. 1975. Some implications of dietary fiber. *Academic London* 2:1408-1412.

9. Camejo de Aparicio C., 1996. Extracción y caracterización de pectina en toronjas. Revista de la facultad de agronomía Universidad del Zulia –Venezuela. [online]. jul. 2005, vol.22, no.3 [citado 08 octubre 2010], Disponible en la Web: <[http://www.revfacagronluz.org.ve/v13\\_5/v135z013.html](http://www.revfacagronluz.org.ve/v13_5/v135z013.html).
10. Chen, J., M. Piva y T. P. Labuza., 1984. Evaluation of Water Binding Capacity (WBC) of food fiber sources. *Journal of Food Science*. 49, 59-63.
11. Coulate T.P., 2007, Manual de Química y Bioquímica de los alimentos, Tercera edición, paginas 52-54, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
12. Cruz M., 2002. "Caracterización fisicoquímica, fisiológica y funcional de residuos fibrosos de cascara de maracuyá (*Pasiflora edulis*)" Tesis. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
13. Cheftel C., 1986. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Sexta edición. Volumen I. Editorial Acribia. Zaragoza. pp. 135-157.
14. Cummings JH, Branch WJ. 1986. Fermentation and the Production of Short- Chain Fatty Acids in the Human Intestine. En: *Dietary Fiber: Basic and Clinical Aspects* (eds). Vahouny GV, Kritchevsky: New York, pp. 131-152.
15. Devia Pineda J. E., 2003. "Proceso para Producir Pectinas Críticas" Universidad Eafit Medellín, Colombia pp. 21-30.
16. El Oufir L, Barry JL, Flourié B, Cherbut C. 2000. Relationship between transit time and in vitro fermentation of dietary fiber by fecal bacteria. *Eur. J. Clin. Nutr.* 54:603-609.
17. Fiszman S., 1998. Mecanismo de Gelificación. Propiedades funcionales de los hidrocoloides polisacáridos. *Revisía Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. Número 59. pp. 115 -135.

18. Femenia, A., Lefebvre Y., Thebaudin A., Robertson y C.Bourgeois. 1997. Physical and sensory propertie of model foods supplemented with cauliflower fiber. *Journal of food science*. 62, 635-639.
19. Fennema Owen R., 2000. "Química de los alimentos", segunda edición, editorial Acribia S.A. Zaragoza-España páginas 227-259.
20. Gierselmer K., 1997. Pectin and pectin enzymes in fruit. *Vegetables technology* Páginas 171-185.
21. Gómez Z., Juan R., 1998. Factibilidad Técnica del Aislamiento y la Caracterización de Pectina Cítrica para el Sector Agroindustrial. (Trabajo de Grado). Medellín: Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Administración.
22. Herbstreth & Fox., 2001. "The Specialists for Pectins". <http://www.herbstreith-fox.de/produkte/englisch/einstanthtm> ( 10 feb. 2001).
23. Hernández T, Hernández A, Martínez C. 1995. Fibra alimentaria, conceptos, propiedades y métodos de análisis. *Alimentaria* 261:19-30.
24. Jordi Pagan y Gilabert, 1998. Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón ISBN: 89-89727-64-3 Depósito Legal: S. 54-98
25. Kim YI. 2000. AGA technical review: impact of dietary fiber on colon cancer occurrence. *Gastroenterology* 118:1235-1257.
26. Ludeña U., 1986. Factibilidad Técnica de Procesamiento del Níspero. [Tesis] Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
27. Mateu X. 2004. La fibra en la alimentación. *Farmacia hospitalaria*. Edikamed 12: 56-63.

28. Molina ME, Martín AP. 2007. La fibra dietética procesada como alimento funcional. *Nutrición* 26:70-77.
29. Monreal S, Fernández JM, Fernández J, Sayas E, Pérez JA. 2002. Aspectos fisiológicos y nutritivos de los alimentos funcionales. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 8:132-165.
30. Ministerio de Salud del Perú 2010, DIGESA: Dirección General de Salud Ambiental. Métodos para determinación de microorganismos.
31. Ministerio de Agricultura del Perú 2009 “Producción Hortofrutícola” Diseño grafico DGIA-MINAG, 598 páginas.
32. Primo Y. 1992. Química agrícola: Tecnología de productos alimenticios. Cuarta Edición. Tomo III. Páginas 242-263. Editorial Alambra. México DF.
33. Palomino F., 2000. Estudio Tecnológico para la Producción de Conserva de Níspero (*Mespilts germánica*). [Tesis] Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho.
34. Peraza G., 2000. Caracterización de los residuos fibrosos de *Canavalia ensiformis* L. y *Phaseolus Innatas* L. y su incorporación a un producto alimenticio. Tesis. Universidad Autónoma de Yucatán-Facultad de Ingeniería Química. México.
35. Ramírez Santiago C., Lobato-Callerosb C., Vernon-Carter E.,2009. Pectina de membrillo (*Cydonia oblonga mill*): Funcionalidad como agente emulsificante/estabilizante de emulsiones aceite en- agua. Academia mexicana de investigación y docencia en Ingeniería Química (AMIDIQ).
36. Redondo L. 2002. Propiedades de la Fibra Dietética. En: La Fibra Terapéutica (eds). Glosa: Barcelona, pp. 29-51.

37. Southgate DAT. 1978. Dietary fiber: analysis and foods sources. *Am. J. Clin. Nutr.* 31:107-110.
38. Suca Apaza C., 2007. Guía de laboratorio de análisis de productos agroindustriales. Universidad nacional Micaela Bastidas de Apurímac- Perú.
39. Sueldo C., 1984. Costos Acumulativos en la Producción Industrial del Níspero en el Valle del Mantaro. [Tesis] Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
40. Tamaro D., 1986. Tratado de Fruticultura Editorial Gustavo Guilli. 4ta edición. Barcelona.
41. Tamayo y Bermúdez, 1998. Los residuos vegetales de la industria de jugo de naranja como fuente de fibra dietética. En *Temas de Tecnología de alimentos*. Vol. 2. Fibra Dietética; editada por Lajolo, M. y E. Wenzel. CYTED. Instituto Politécnico Nacional. México. 181-189.
42. Untiveros Bermúdez G. S., 2003. Revista Soc. Química, departamento de química, facultad de ciencias y filosofía de la Universidad Cayetano Heredia-Perú.
43. UNC., 2006. Universidad Nacional de Colombia. Curso de agronomía, [visitado el 7 de agosto del 2010]. Elaboración de mermelada disponible en la red: <http://www.virtual.unal.edu.com/cursos/agronomia/teoria/obmerm/p3.htm>
44. Vasquez R., *et al.* 2008. Extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano (Musa AAB, subgrupo plátano) clon Hartón. *Rev. Fac. Agron.* [online]. jun. 2008, vol.25, no.2 [citado 22 Septiembre 2010], p.318-333. Disponible en la Web: <<http://www.scielo.org.ve/scielo.php>. ISSN 0378-7818.
45. Vargas Rafael Y., Pisfil Egoavil E., 2008. Estudio químico bromatológico y elaboración de néctar de níspero de palo (*Mespilus germánica L.*). [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Perú.

46. Velázquez de Castro, OH, 2007. Efecto de la fibra en un modelo de colitis experimental en rata, papel de los ácidos grasos de cadena corta. Tesis (Dr). Universidad de Granada.
47. Vilcanqui Pérez F., 2009. Extracción y caracterización funcional de la fibra de hojas del *Agave tequilana* Weber destinados para la inclusión en alimentos. [Tesis maestría]. Universidad Autónoma de Nuevo León – México.
48. Villarroel M, Acevedo C, Yáñez E, Biolley E. 2003. Propiedades funcionales de la fibra del musgo *Sphagnum magellanicum* y su utilización en la formulación de productos de panadería. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN 53:400-407.
49. Zambrano M L, Hernández A D, Gallardo Y. 2002. Caracterización fisicoquímica del nopal. En: Temas en tecnología de alimentos. Fibra dietética. Vol. 2, Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo - CYTED (eds). Alfaomega: México, pp. 29-42.

# ANEXOS



## ANEXO 1. Análisis estadístico del trabajo de investigación

### 1. Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de extracción y caracterización de pectina del níspero de palo (*Mespilus germanica* L.)

#### 1.1. Prueba de hipótesis

##### a. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

Todos los tratamientos o factores estadísticamente son similares entre sí.

##### b. Hipótesis alterna (H<sub>a</sub>)

Al menos uno de los tratamientos o factores estadísticamente difieren de los demás.

- Si:  $P < \alpha$ , se rechaza la H<sub>0</sub> y se acepta la H<sub>a</sub>; por lo tanto existe diferencias y es significativa sobre la variable respuesta.
- Si:  $P > \alpha$ , se acepta la H<sub>0</sub> y se rechaza la H<sub>a</sub>; por lo tanto no existe diferencias y no influye en la variable respuesta.

##### c. Coeficiente de variabilidad (CV)

$$CV = \left( \frac{\sqrt{CME}}{\frac{\sum Y \dots}{T \cdot r}} \right) * 100 \text{----- Ecuación (14)}$$

Donde:

CME: Cuadrado medio del error

$\sum y \dots$ : Sumatoria de todos los resultados

T: Numero de tratamientos

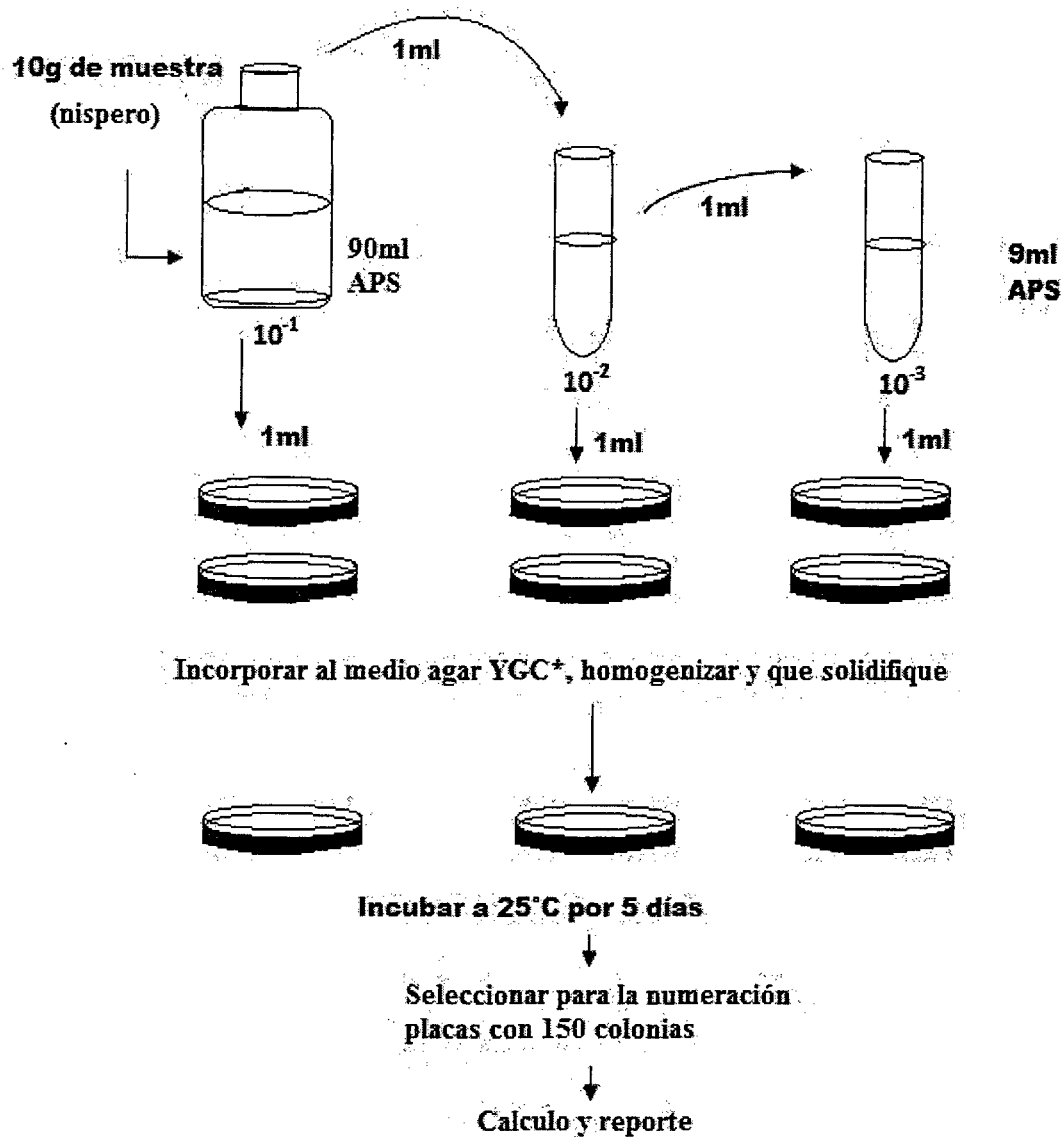
r : Numero de replicas

En investigaciones químicas y similares los coeficientes de variabilidad deben ser menores al 9 %; lo cual indica que los resultados tienen alta precisión.

## ANEXO 2. Métodos de análisis microbiológico.

### 2.1. Análisis de mohos y levaduras en la materia prima (*Mespilus germanica* L.)

#### Procedimiento Normalizado de Determinación de mohos y levaduras [ ISO 7954: 1987]



\*Agar YGC= agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol

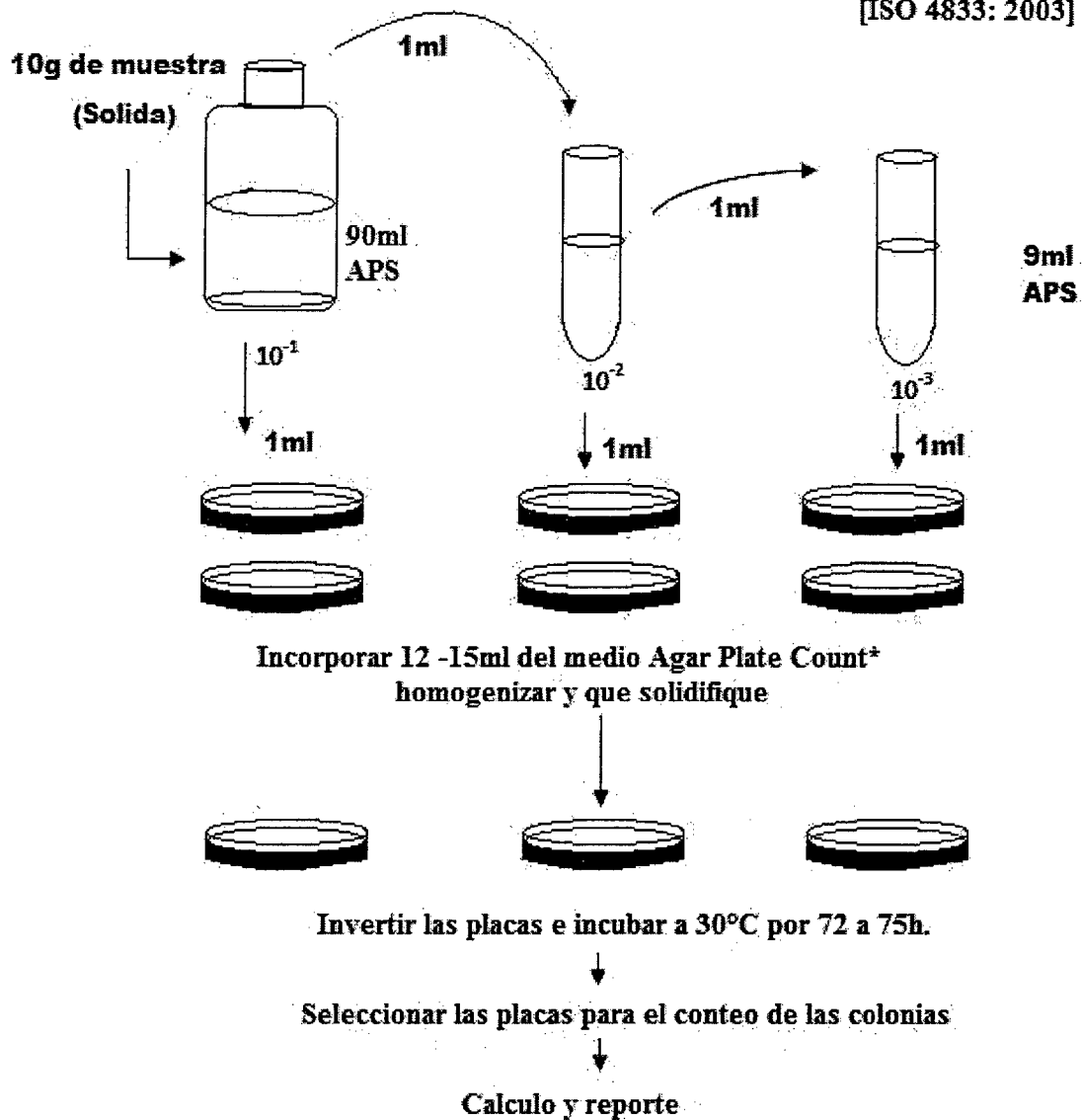
Figura 14. Diagrama de flujo para la determinación de mohos y levaduras

Fuente: Ministerio de Salud del Perú, DIGESA, 2010.

## 2.2. Análisis de aerobios mesófilos en la materia prima (*Mespilus germanica* L.)

### Procedimiento normalizado de operación de la numeración de aerobios mesófilos

[ISO 4833: 2003]



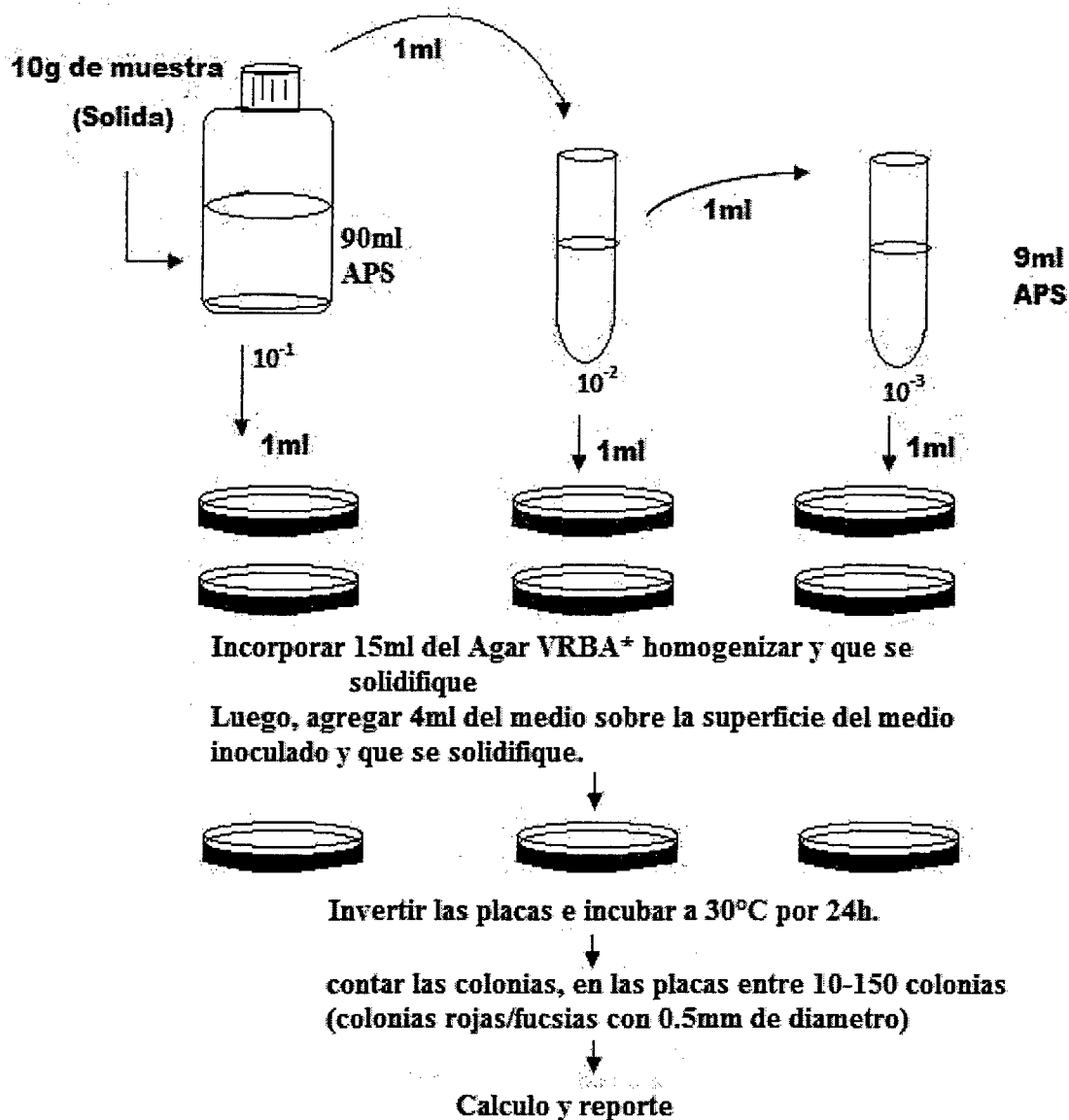
\* Agregar a 100ml del medio Agar Plate Count (PCA), 2ml de TTC al 0.5% (TTC= 2,3,5, triphenil tetrazolium chloride)

Figura 15. Diagrama de flujo para la determinación de aerobios mesófilos

Fuente: Ministerio de Salud del Perú, DIGESA, 2010.

### 2.3. Análisis de coliformes en la materia prima (*Mespilus germanica* L.)

Procedimiento Normalizado de operación numeración de Coliformes [ISO 4832:2006]

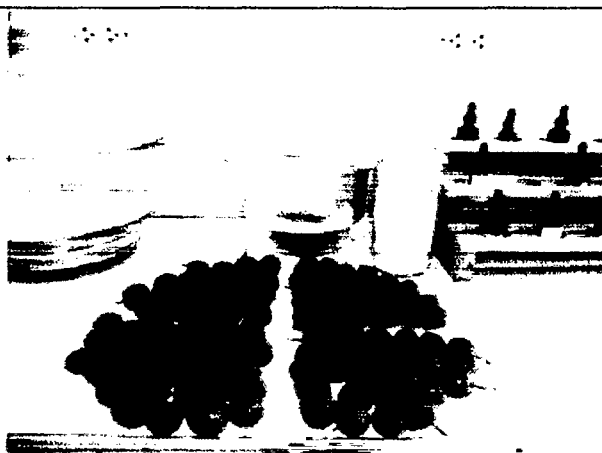
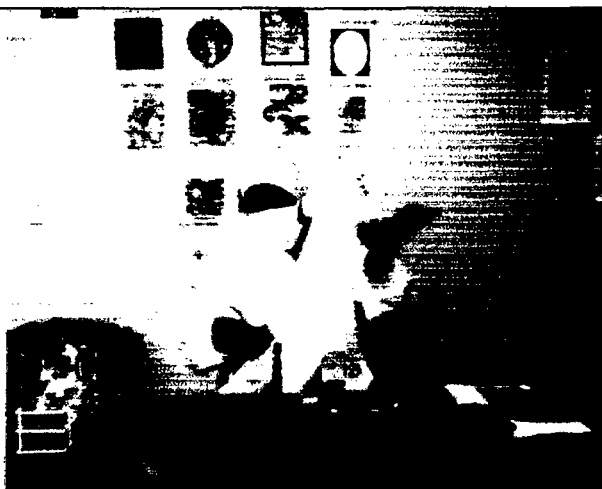


\*VRBA=Agar Violeta red bile ó

VRBL = Cristal violet neutral red bile lactosa.

Figura 16. Diagrama de flujo para la determinación de coliformes

Fuente: Ministerio de Salud del Perú, DIGESA, 2010.

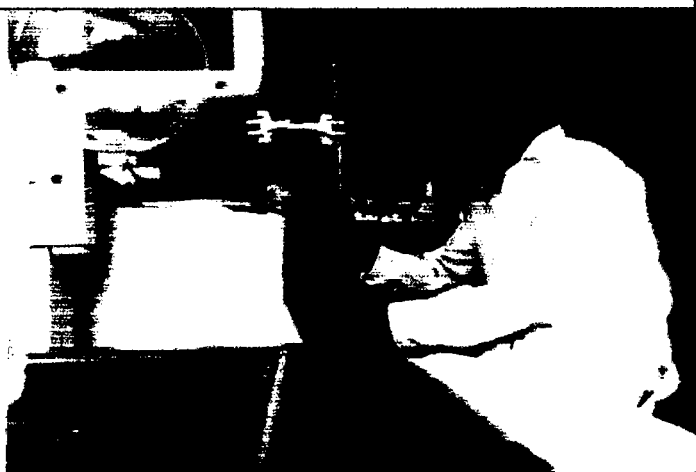
**ANEXO 3. Fotografías****Fotografía 1. Toma de muestra en la provincia de Andahuaylas****Fotografía 2. Trabajo de análisis en el laboratorio de química****Fotografía 3. Trabajo de análisis en el laboratorio de Microbiología**



**Fotografía 4. Trabajo de extracción de pectina**



**Fotografía 5. Pectina extraída, puestas en placas para el secado**



**Fotografía 6. Caracterización de la pectina extraída.**

