

**DESARROLLO DE UNA PELICULA COMESTIBLE EMPLEANDO
COMO COMPONENTE BASE LA PECTINA DE SUBPRODUCTOS
DEL CACAO
(CCN 51)**

Investigador Principal
YENNY YESSENIA FLOREZ BARRERA
Estudiante de Ingeniería de Alimentos
Universidad de Pamplona

**Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos
“GINTAL”**



**INGENIERÍA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, junio de 2018**

**DESARROLLO DE UNA PELICULA COMESTIBLE EMPLEANDO COMO
COMPONENTE BASE LA PECTINA DE SUBPRODUCTOS DEL CACAO
(CCN 51)**

**Investigador Principal
YENNY YESSENIA FLOREZ BARRERA
Estudiante de Ingeniería de Alimentos
Universidad de Pamplona**

**Director
YANINE Y. TRUJILLO NAVARRO
Ph.D. Tecnología, Calidad y Marketing en Industrias Agroalimentarias
Universidad de Pamplona**

**Codirector
DANIEL S. DURAN OSORIO
Ph.D. Tecnología, Calidad y Marketing en Industrias Agroalimentarias
Universidad de Pamplona**

**Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos
“GINTAL”**



**INGENIERÍA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, junio de 2018**

AGRADECIMIENTOS

Son muchos las experiencias vividas a lo largo de este gran camino lleno de momentos buenos, malos y regulares durante mi vida universitaria la cual me hicieron la persona que soy en día, me gustaría agradecer, primeramente, a Dios por estar a mi lado día a día, por cuidarme y protegerme en todo momento, por ayudarme a cumplir todas mis metas y objetivos, por a verme dado la gran familia que tengo, por hacerme una persona de bien, feliz y exitosa.

A mis padres Elvis Florez Fuentes y Carmen Oliva Barrera Quintero, por proporcionarme incondicionalmente todo su amor y por estar conmigo en todos los momentos de mi vida. Papá, mamá, gracias por apoyarme a lo largo de mi carrera, por el gran esfuerzo que hicieron para que yo siempre tuviera todo lo necesario y que nunca me faltara nada, para que terminara mis estudios satisfactoriamente. A los dos gracias por la confianza que depositaron en mí, jamás terminare de agradecer el gran sacrificio que hicieron, Gracias por todo, y especialmente por a verme proporcionado una carrera para mi futuro y hacer de mí una persona de bien, Los amo.

A la Ph.D. Yanine Trujillo Navarro, por haber confiado en mí, por la paciencia, disposición y dirección de este trabajo, por todos los apoyos, conocimientos, orientación y dedicación.

A todas las personas que de una u otra manera han contribuido a la realización de presente trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

| CAPITULO | | Pág. |
|----------|-------------------------------------------------------------|------|
| 1 | RESUMEN DEL PROYECTO | 1 |
| 2 | MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE | 2 |
| 2.1 | DEFINICION PELICULA COMESTIBLE | 2 |
| 2.2 | COMPOSICION | 2 |
| 2.2.1 | Hidrocoloides | 2 |
| 2.2.2 | Carbohidratos | 2 |
| 2.2.2.1 | <i>Almidón</i> | 3 |
| 2.2.2.2 | <i>Alginatos</i> | 3 |
| 2.2.2.3 | <i>Carragenina</i> | 3 |
| 2.2.2.4 | <i>Derivados de celulosa</i> | 4 |
| 2.2.2.5 | <i>Quitosano</i> | 4 |
| 2.2.2.6 | <i>Pectinas</i> | 4 |
| • | <u><i>Pectinas de alto índice de metoxilo</i></u> | 5 |
| • | <u><i>Pectinas con bajo índice de metoxilo</i></u> | 5 |
| • | <u><i>Pectinas amídicas con bajo índice de metoxilo</i></u> | 5 |
| • | <u><i>Películas comestibles a base de pectinas</i></u> | 6 |
| 2.2.3 | Lípidos | 6 |
| 2.2.3.1 | <i>Ácido oleico</i> | 7 |
| 2.2.4 | Mezcla entre biopolímeros | 8 |
| 2.2.5 | Plastificantes | 9 |
| 2.2.5.1 | <i>Polietilenglicol 400</i> | 9 |
| 2.2.5.2 | <i>Glicerol</i> | 10 |
| 2.3 | MECANISMOS DE FORMACION DE PELICULAS COMESTIBLES | 10 |
| 2.3.1 | Eliminación del solvente | 10 |
| 2.3.2 | Solidificación de la mezcla | 10 |
| 2.3.3 | Extrusión | 11 |
| 2.3.4 | Coacervación | 11 |
| 2.3.5 | Gelificación o coagulación térmica | 11 |
| 2.4 | PROPIEDADES | 11 |
| 2.5 | CACAO (TEOBROMA CACAO) | 12 |
| 2.5.1 | Variedades | 13 |
| 2.5.1.1 | <i>Tipo criollo</i> | 13 |
| 2.5.1.2 | <i>Tipo forastero</i> | 13 |
| 2.5.1.3 | <i>Tipo trinitario</i> | 14 |
| 2.5.1.4 | <i>Clon CCN-51</i> | 14 |
| 2.5.2 | Partes y subproductos cacao | 14 |
| 2.5.3 | Uso industrial y culinario de los subproductos del cacao | 15 |
| 2.5.3.1 | <i>Aporte de materia orgánica</i> | 15 |
| 2.5.3.2 | <i>Alimentación animal</i> | 15 |

| | | |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.3.3 | <i>Fuente de fibra</i> | 16 |
| 2.5.3.4 | <i>Fuente de antioxidantes</i> | 16 |
| 2.5.3.5 | <i>Desarrollo de productos alimenticios</i> | 16 |
| 2.5.3.6 | <i>Desarrollo de clarificantes</i> | 16 |
| 2.5.3.7 | <i>Fuente de pectinas</i> | 17 |
| • | <i>Extracción pectina subproductos cacao</i> | 17 |
| 3 | OBJETIVO GENERAL | 18 |
| 3.1 | OBJETIVOS ESPECIFICOS | 18 |
| 4 | METODOLOGIA | 19 |
| 4.1 | OBTENCION DE LA PECTINA DE CACAO PULVERIZADA | 19 |
| 4.1.1 | Recolección y desgranado de mazorcas | 19 |
| 4.1.2 | Ensayos previos para la definición del subproducto del cacao a emplear en la obtención de la pectina | 19 |
| 4.1.2.1 | <i>Determinación de sustancias pécticas totales</i> | 20 |
| • | <u><i>Extracción de las sustancias pécticas</i></u> | 20 |
| • | <u><i>Determinación de pectinas solubles en agua</i></u> | 20 |
| • | <u><i>Determinación del contenido de pectina</i></u> | 20 |
| • | <u><i>Elaboración de la curva estándar AGA</i></u> | 21 |
| 4.1.3 | Extracción de la pectina del subproducto de cacao establecido | 21 |
| 4.1.3.1 | <i>Acondicionamiento y tratamiento del material</i> | 21 |
| • | <u><i>Extracción de la mazorca</i></u> | 21 |
| • | <u><i>Extracción de la cascara</i></u> | 22 |
| • | <u><i>Extracción del mucilago</i></u> | 22 |
| 4.1.3.2 | <i>Hidrolisis de la pectina</i> | 22 |
| • | <u><i>Hidrolisis y obtención de la pectina a diferentes condiciones</i></u> | 22 |
| 4.1.3.3 | <i>Peso equivalente</i> | 23 |
| 4.1.3.4 | <i>Contenido de metoxilo</i> | 24 |
| 4.1.3.5 | <i>Grado de esterificación</i> | 24 |
| 4.2 | ESTUDIO DEL EFECTO EN LOS COMPONENTES DE LAS PELICULAS COMESTIBLES EN LAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS | 25 |
| 4.2.1 | Variación de la relación peso volumen de la pectina a emplear | 25 |
| 4.2.2 | Componentes de la solución filmogénica | 25 |
| 4.2.2.1 | <i>Formación y secado de las películas comestibles</i> | 26 |
| 4.2.3 | Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles | 26 |
| 4.2.3.1 | <i>Espesor</i> | 26 |
| 4.2.3.2 | <i>Contenido de humedad</i> | 26 |
| 4.2.3.2 | <i>Permeabilidad al vapor de agua (pva)</i> | 26 |

| | | |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3 | DEFINICION DE LA PELICULA COMESTIBLE A BASE DE PECTINA DE LOS SUBPRODUCTOS DEL CACAO | 27 |
| 5 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 28 |
| 5.1 | OBTENCION DE LA PECTINA DEL CACAO PULVERIZADA | 28 |
| 5.1.1 | Análisis del fruto | 28 |
| 5.1.2 | Determinación y cuantificación de las sustancias pécticas | 29 |
| 5.1.3 | Extracción de sustancias pécticas del subproducto de cacao establecido | 31 |
| 5.2 | ESTUDIO DEL EFECTO EN LOS COMPONENTES DE LAS PELICULAS COMESTIBLES EN LAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS | 39 |
| 5.2.1 | Variación relación peso volumen de la pectina y componentes de la solución filmogenica | 39 |
| 5.2.2 | Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles | 41 |
| 5.3 | DEFINICIÓN DE LA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE LA PECTINA DE LA CASCARA DEL CACAO | 43 |
| 6 | CONCLUSIONES | 45 |
| 7 | RECOMENDACIONES | 47 |
| 8 | BIBLIOGRAFIA | 48 |

INDICE DE FIGURAS

| | | pág. |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Figura 1. | Efecto barrera de los recubrimientos y películas comestibles aplicados a alimentos. | 11 |
| Figura 2. | Pectina de cascara de cacao extraída bajo nueve tratamientos. | 32 |
| Figura 3. | Precipitación y separación de sustancias pécticas | 33 |
| Figura 4. | Efecto en la variación de relación peso/volumen de la pectina | 39 |
| Figura 5. | Formación y secado de las películas comestibles a diferentes concentraciones de pectina. | 40 |

INDICE DE TABLAS

| | | Pág. |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tabla 1. | Contenido de sustancias pécticas en algunos materiales vegetales | 5 |
| Tabla 2. | Condiciones de pH y temperatura empleadas en la extracción de la pectina | 23 |
| Tabla 3. | Distribución de pesos y rendimientos de los componentes de las mazorcas de cacao | 28 |
| Tabla 4. | Determinación de sustancias pécticas solubles o contenido de AGA en los subproductos del cacao | 30 |
| Tabla 5. | Porcentaje de extracción, contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas de cascara de cacao. | 34 |
| Tabla 6. | Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles a diferentes concentraciones de pectina | 42 |

1. RESUMEN DEL PROYECTO

Esta investigación se llevó a cabo con el fin de desarrollar una película comestible empleando como componente base la pectina de los subproductos del proceso del beneficio del cacao. Los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de investigaciones GINTAL de la Universidad de Pamplona. Para ello se evaluó la capacidad de tres componentes o subproductos del cacao como son cáscara, mazorca y mucílago en la obtención de pectina con características que permitan su uso en la formación de una película comestible. Se valoraron las variables de respuesta, contenido de pectina, grado de metilación y grado de esterificación de la pectina obtenida a partir de los subproductos del cacao, teniendo en cuenta los factores determinantes, los cuales fueron temperatura de cocción (50, 70, 90 °C) y pH (2, 3 y 4) de la mezcla antes del hidrolisis. Una vez seleccionado el subproducto del cacao, se emplearon tres concentraciones de la pectina, 0.5, 1.0 y 2.0% junto con la adición del surfactante Tween 20 y el glicerol como plastificante, ambos a una concentración del 20% en base seca. La dispersión fue desgasificada y transferida 50 g a una caja Petri para ser dispuesta a secado del films por un tiempo de 16 horas a 60°C. La película obtenida con el 2% de pectina permite obtener una mejor permeabilidad al agua, un mayor espesor, baja transferencia del vapor de agua. Se concluye que la cáscara del cacao CCN51 es un componente que permite su uso en la elaboración de películas comestibles cuyas características se asemejan a los de un empaque de polietileno de alta densidad en cuanto a su espesor y permeabilidad al vapor de agua.

2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

2.1 DEFINICION PELICULA COMESTIBLE

De acuerdo con (González, 2011) las películas comestibles se definen como una capa delgada de polímero que puede ser consumida y empleada en la superficie de un alimento como cubierta para la extensión de su vida útil. En los últimos años una gran cantidad de materiales han sido investigados con el fin de obtener películas comestibles y biodegradables (Moncayo *et al.*, 2016), estas son el resultado de la mezcla de diferentes biopolímeros, plastificantes, emulsificantes, lípidos, antimicrobianos, saborizantes, colorantes, probióticos, antioxidantes, etc., que permiten mejorar la calidad de los films en cuanto a permeabilidad, propiedades mecánicas, entre otras (Valdés *et al.*, 2015).

2.2 COMPOSICION

Las películas comestibles se pueden elaborar a partir de diferentes materiales, a continuación, se presentarán los más utilizadas y su naturaleza en la formación de los films.

2.2.1 Hidrocoloides

Los films elaborados a partir de hidrocoloides pueden ser usados en aquellas aplicaciones donde el control de la migración de agua no es el objetivo. Sin embargo, presentan buenas propiedades de barrera frente al oxígeno, dióxido de carbono y los lípidos. La mayoría también poseen propiedades mecánicas deseables, útiles para mejorar la integridad estructural de productos frágiles (Mendez, 2005).

Dado su carácter hidrofílico, son solubles en agua caliente, y se disuelven sin alterar las propiedades sensoriales del alimento sobre el cual están aplicados. (Saavedra y Algecira, 2003).

2.2.2 Carbohidratos

Los carbohidratos son ampliamente usados en la industria de alimentos como estabilizantes, espesantes y gelificantes. Además y gracias a sus propiedades filmógenas, también pueden utilizarse en la elaboración de películas comestibles con buenas características como barreras eficientes contra compuestos de bajo polaridad, igualmente proporciona selectividad en cuanto a la permeabilidad al oxígeno y dióxido de carbono condiciona la creación de atmósferas modificadas al

interior del empaque, lo que traduce en un aumento de la vida útil del producto (Saavedra y Algecira, 2003).

En la formación de películas los carbohidratos más utilizados son el almidón, alginato, carragenina, derivados de la celulosa, quitosano y pectina. Debido a que estos compuestos tienen características de ser polímeros de cadena larga, solubles en agua y de producir un fuerte aumento en la viscosidad al dispersarse en ella.

2.2.2.1 Almidón

Debido a su abundancia y bajo costo de producción, existe un gran interés en la utilización de almidón como componente de películas comestibles y recubrimientos biodegradables. Químicamente, el almidón está formado por polímeros de glucosa unidos por enlaces glucosídicos α (1-4) y α (1-6), dando lugar a dos fracciones básicas, la amilosa y la amilopectina estas se encuentran aproximadamente en un 75% de amilopectina y 25% de amilosa (Saavedra y Algecira, 2003). Las películas comestibles de almidón se producen por vaciado o moldeado de una dispersión acuosa gelatinizada de amilasa, seguida por la evaporación del solvente, lo que da lugar a la formación de una película transparente, clara, flexible y presenta excelentes barreras contra el oxígeno sin embargo sus propiedades contra la humedad, no son tan buenas e igual que sus propiedades mecánicas son generalmente inferiores a las películas sintéticas (Achipiz *et al.*, 2013).

2.2.2.2 Alginatos

En solución acuosa forma geles que se usan para la formación de las películas (los más utilizados son los de calcio). Se forman mediante la evaporación de una solución acuosa de alginato, seguido de un ligamiento entrecruzado iónico con una sal de calcio. Las películas de alginatos se usan en productos cárnicos, actuando éstas como agente sacrificante, es decir, la humedad se pierde de la cobertura antes que el alimento se deshidrate de manera significativa, las películas formadas por este material presentan buenas barreras contra el oxígeno, aceites y grasas (Mendez, 2005).

2.2.2.3 Carragenina

Proceden de las algas rojas, se extraen de forma industrial. Se disuelven en agua caliente formando una solución acuosa del polímero, esta gelificación ocurre probablemente por la formación de una estructura de doble hélice en forma de red, que se origina mediante la adición de una sal específica, lo cual da lugar a puentes intercatenarios de gran importancia. Los recubrimientos elaborados a partir de carragenina retardan la pérdida de humedad igualmente estas son transparentes e inodoras (Mendez, 2005).

2.2.2.4 Derivados de celulosa

La celulosa y sobre todo sus formas esterificadas tales como la carboximetilcelulosa (CMC), metilcelulosa (MC), hidroxipropimetilcelulosa (HPMC) e hidrocietilcelulosa (HEC) son consideradas como buenos agentes formadores de películas, ya que son capaces de formar redes continuas en soluciones acuosas. La celulosa tiene un origen vegetal, proviene de los tejidos fibrosos de las plantas, por lo que es el más abundante de los materiales orgánicos. Las películas elaboradas a partir de celulosa no son buenas barreras a los gases ni al vapor de agua, pero son excelentes para la protección de ciertos productos que, a humedades altas y tasas de respiración elevadas, este material no permite la formación de condensados, generalmente los films elaboradas con este material son sólidas claras y resistentes (Rubio y Guerrero, 2012).

2.2.2.5 Quitosano

Es un polisacárido catiónico de alto peso molecular, el cual presenta propiedades antifúngicas. es un excelente formador de películas debido a su buena solubilidad puede ser modificado químicamente en diferentes formas y presentaciones (fibras, películas, cápsulas, recubrimientos). Se obtiene de la desacetilación de quitina presente en los desechos de los mariscos. Es buena barrera frente al oxígeno y frente al dióxido de carbono, las películas elaboradas con este polisacárido son claras, resistentes, flexibles y presentan buenas barreras contra el oxígeno, los films elaborados con este polisacárido pueden proteger a los alimentos contra ataques microbianos (Valdés *et al.*, 2015).

2.2.2.6 Pectinas

Son polisacáridos que se componen principalmente de unidades de ácido galacturónico unidos por enlaces glucosídicos α 1-4, localizados en la media y la pared primaria de las células vegetales, son sustancias blandas amorfas que forman en agua una solución viscosa, con una alta capacidad de melificar (Barreto *et al.*, 2017). La pectina se extrae, a partir de materiales vegetales que tienen un alto contenido de éstas. Según el tratamiento que se haga a las materias primas se obtienen diferentes calidades de pectinas, de acuerdo con las necesidades de los productos terminados (Pineda, 2012).

Las pectinas se dividen en tres grupos según sus propiedades de gelación, que están asociadas con el grado de esterificación metílica:

- Las pectinas con alto índice de metoxilo

Contienen más de un 50% de unidades del ácido poligalacturónico y por tanto no reaccionan con iones de calcio. El poder de gelación depende, entre otros, del contenido ácido, del tipo de pectina y de la cantidad de sólidos solubles, que generalmente es más del 55 (Cabarcas *et al.*, 2012).

- Las pectinas con bajo índice de metoxilo

Son las que tienen menos del 50% de unidades esterificadas del ácido poligalacturónico y por lo tanto forman geles no sólo con sólidos solubles que contienen iones calcio sino también con azúcares y otros ácidos. En este caso el poder de gelación también depende del pH y de la concentración de iones calcio, lo cual influye en la textura del gel formado (Pineda, 2012).

- Las pectinas amídicas con bajo índice metoxilo

Son aquellas que han sido desmetoxiladas con amoníaco en lugar de usar ácidos. Cuando se hace el proceso de desmetoxilación, una parte de los grupos éster se reemplaza por grupos amida, lo cual modifica las propiedades de gelación de la pectina. Requieren pequeñas cantidades de iones calcio para el proceso de gelatinización (Cabarcas *et al.*, 2012).

Aunque las pectinas se encuentran en la mayoría de tejidos vegetales, el número de fuentes es limitado debido a que la proporción y la capacidad de formar geles varía, en la tabla 1 se presenta el contenido de sustancias pécticas provenientes de algunos vegetales.

Tabla 1. Contenido de sustancias pécticas en algunos materiales vegetales

| Fruta | Sustancias pécticas (g/100 g) |
|--------------------------------------------------|-------------------------------|
| Manzana (<i>Malus sylvestris</i>) | 2,5-1,6 |
| Pulpa de manzana | 1,5-2,5 |
| Banana (<i>Musa acuminata L.</i>) | 0,7-1,2 |
| Pulpa de remolacha (<i>Beta vulgaris</i>) | 1,0 |
| Zanahoria (<i>Daucus carota</i>) | 0,2-0,5 |
| Guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>) | 0,77-0,99 |
| Pulpa de limón (<i>Citrus limón</i>) | 2,5-4,0 |
| Mango (<i>Mangifera indica L.</i>) | 0,26-0,42 |
| Cascara de naranja (<i>Citrus sinensis L.</i>) | 3,5-5,5 |
| Lechosa (<i>Carica papaya</i>) | 0,66-1,0 |
| Parchita (<i>Passiflora edulis L.</i>) | 0,5 |

| | |
|-------------------------------------------|-----------|
| Cascara de parchita | 2,1-3,0 |
| Piña (<i>Ananas comosus</i> L.) | 0,04-0,13 |
| Fresa (<i>Fragaria ananassa</i>) | 0,6-0,7 |
| Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | 0,2-0,6 |

Fuente: Bazarte, (2006)

Se han explorado otras fuentes alternas de pectina, como son la cascara y mazorca de cacao, estudios realizados por Bazarte, (2006) identificaron que el mayor contenido de pectina en el cacao se encuentra en el endocarpio por el hecho de tratarse de un tejido blando formado por abundantes células mucilaginosas y con una gran capacidad de atrapar agua, en contraparte con el exocarpio–mesocarpio que al igual que la placenta es un tejido mucho más duro y con gran contenido de lignina y celulosa, en total se obtiene 6,58 g/100 g de pectina.

- Películas comestibles a base de pectinas

Valdés *et al.*, (2015) con sus estudios identificaron que las películas o recubrimientos elaborados a partir de pectina ofrecen una alta permeabilidad al vapor de agua, así mismo Sánchez *et al.*, (2015) en su investigación, caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón, obtuvieron como resultados, que los films a base de extracto con formulación (1,0% pectina, 0,75% glicerol, 500 mg/kg aceite esencial de limón) presentaron una fuerza a la punción de $1.48 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ y una permeabilidad al vapor de agua de $5.17 \times 10^{-11} \text{ g}\cdot\text{s}^{-1} \cdot\text{m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, también Sothornvit y Pitak, (2007), encontraron que las películas de almidón y pectina tienen un alto módulo de elasticidad; sin embargo, fueron muy quebradizas, pero lograron evitar esto adicionando un plastificante. Du *et al.*, (2009) estudiaron el efecto del aceite esencial de canela y clavo en las propiedades de películas comestibles a base de puré de manzana y pectina y encontraron que la incorporación de dicho aceite redujo significativamente la fuerza de tensión y el módulo de elasticidad de las películas.

2.2.3 Lípidos

Los films elaborados a base de lípidos se caracterizan por sus excelentes propiedades como barrera frente a la humedad. Dentro de este grupo se incluyen las ceras, resinas, ácidos grasos y monoglicéridos y diglicéridos. Estos materiales se suelen utilizar con la finalidad de aportar hidrofobicidad a una determinada superficie (Van, 2013).

La polaridad relativamente baja de los compuestos lipídicos y su capacidad para formar una red molecular densa y ordenada tras un enfriamiento apropiado, explica las excelentes propiedades como barrera contra la humedad de las películas y

recubrimientos, por regla general, se observa el siguiente orden de eficacia en sentido decreciente: ceras > grasas solidas > lecitina, acetoglicéridos > aceites líquidos (Van, 2013).

No obstante, su uso de forma individual, sin mezclar con otras sustancias, presenta limitaciones debido a que la mayoría carecen de insuficiente integridad y estabilidad estructural. por ello se suele requerir la presencia de una matriz que actúe como soporte (carbohidratos y proteínas) (Mendez, 2005).

Muchos lípidos existen en forma cristalina y sus cristales individuales son altamente impermeables a los gases y al vapor de agua. Aun así, hay que considerar la permeabilidad puede pasar a través de los cristales y por tanto las propiedades de barrera dependen del empaquetamiento intercristalino (Van, 2013). Cuanto más hermética sea la disposición de los cristales, mayor es la resistencia a la difusión; así mismo los cristales orientados perpendicularmente al flujo permeante proporcionan un mejor efecto barrera que agrupados con otra orientación. El uso de los lípidos en forma pura como recubrimientos está limitado pues no poseen suficiente integridad estructural ni durabilidad. Su fragilidad hace que requieran ser empleados con una matriz que actúe de soporte (Ávila y López, 2008), Las ceras, aceites, especialmente el ácido oleico son los más utilizados en la formación de películas comestibles.

2.2.3.1 Ácido oleico

El ácido oleico es ácido graso monoinsaturado, de la serie de los omega 9 típico de los aceites vegetales. El cual ejerce una acción beneficiosa en la formación de películas comestibles ya que se ha demostrado una disminución en la permeabilidad al vapor de agua (Montalvo *et al.*, 2012).

Su fórmula química es $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}:\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$, es un líquido oleoso e incoloro que se torna de color amarillento a café, al entrar en contacto con el aire, industrialmente es utilizado en el uso funcional en alimentos, aditivo de grado alimenticio, agente antiespumante, lubricante y atador (Yu, 2004).

El ácido oleico se encuentra en la mayoría de aceites naturales aproximadamente en las siguientes proporciones: en el aceite de oliva de 70 a 75%; en el aguacate 70%; en el aceite de semilla de uvas de 15-20%, en el aceite de girasol "alto-oleico" en un 80% y en de girasol convencional en un 35%. También se le encuentra en el aguacate en una proporción aproximada del 70%.

Guzmán *et al.*, (2015) en su investigación formación de películas comestibles, definió que el ácido oleico presenta además efectos fungicidas y bactericidas, siendo un método alternativo para extender la vida anaquel de frutos.

2.2.4 Mezcla entre biopolímeros

La mezcla entre biopolímeros ayuda a contrarrestar las deficiencias propias de cada componente y así mejoraran las propiedades y características de los materiales formadores de películas comestibles (Rubio y Guerrero, 2012).

Unas de las propiedades que se buscan mejorar, son las propiedades mecánicas, estas depender del tipo de material utilizado y especialmente de su cohesión estructural. La cohesión es el resultado de la habilidad del polímero para formar fuertes y numerosos enlaces moleculares entre cadenas poliméricas, dificultando así su separación (Mendez, 2005).

La presencia de goma de gelán y geles de gelatina, produce un incremento sinérgico en la fuerza del gel, así como un mejoramiento de la firmeza de este. Además, concluyen que las propiedades mecánicas de películas a base de gelatina y goma de gelan, dependen significativamente de las concentraciones de los dos componentes, sugiriendo el uso de películas como materiales de empaque y recubrimientos (Rubio y Guerrero, 2012).

Igualmente, al uso de la enzima transglutaminasa en la elaboración de películas utilizando pectinas y harina de soya como materiales. En su estudio, la presencia de esta enzima presenta superficies más lisas, mayor homogeneidad y mayor resistencia que aquellas elaboradas sin la presencia de la misma (Van, 2013).

El efecto de la temperatura afecta la permeabilidad al oxígeno en películas comestibles elaboradas a partir de mezclas de proteína de soya y gluten de trigo. La permeabilidad al oxígeno incrementa con la temperatura debido a la movilidad de los segmentos poliméricos y al incremento en los niveles de energía de las moléculas de O₂ (Rubio y Guerrero, 2012).

Se ha encontrado que sistemas proteína-polisacárido son caracterizados por una compatibilidad limitada entre sus componentes, lo que ocasionalmente resulta en una separación de fase. La medición de la temperatura de transición vítrea (T_g) ha sido tomada como criterio para establecer la miscibilidad entre biopolímeros de diversos sistemas. Gracias a la medición T_g, en las películas elaboradas con gelatina y almidón no hay separación de fase, siempre y cuando la concentración del plastificante se mantenga por debajo del 15% (Mendez, 2005).

2.2.5 Plastificantes

Un plastificante es definido como una sustancia estable, no volátil con alto punto de ebullición, la cual, cuando es adicionada a otro material, cambia las propiedades físicas y mecánicas de ese material (Mendez, 2005).

La adición de un plastificante permite la obtención de una película menos frágil, más flexible, más dócil y eventualmente más dura y resistente. La incorporación de estos compuestos conlleva a disminuir las fuerzas intermoleculares a lo largo de las cadenas poliméricas, lo cual mejora la movilidad molecular de los componentes. Se cree que los grupos polares (-OH), a lo largo de las cadenas del plastificante, remplazando así las interacciones polímero-polímero (Mendez, 2005).

Los plastificantes más usuales son los polioles y los monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. Entre los polioles más utilizados están el glicerol, propilenglicol, sorbitol, polietilenglicol 200 y polietilenglicol 400 (Rubio y Guerrero, 2012).

Los plastificantes deben ser compatibles con el polímero, para así conseguir las propiedades deseables de la película. Estos compuestos son comúnmente adicionados de 10-60 g/100 g de sólidos secos, dependiendo de la rigidez del polímero (Van, 2013).

Una de las propiedades que más se ve afectada por la incorporación de plastificantes en soluciones formadoras de películas, es la permeabilidad a los gases. En películas a base de polisacáridos y proteínas se han observado incrementos en la permeabilidad al vapor de agua, O₂ y CO₂, a medida que aumenta la concentración del plastificante (Arancibia, 2014).

2.2.5.1 Polietilenglicol

Los polietilenglicoles son polímeros de condensación de óxido de etileno y agua. Cada polietilenglicol va seguido de un número que indica su peso molecular promedio aproximado. En la denominación INCI, el número indica el número de unidades de óxido de etileno promedio su fórmula general es HO(CH₂ - CH₂ - O)_nH₂ (Madrid, 2017).

El Polietilenglicol 400 (PEG-400) es, a 20°C, un líquido límpido, transparente, viscoso, prácticamente incoloro e inodoro de densidad: 1,128 g/ml, su fórmula empírica es: CH₂OH(CH₂OCH₂)_nCH₂OH (Solis, 2016). Este plastificante tiene la capacidad de formar puentes de hidrógeno y la longitud de la cadena sobre la estructura molecular del caseinato de sodio, encontrando que forman películas con excelentes propiedades tensiles (Madrid, 2017).

2.2.5.2 Glicerol

El glicerol, o glicerina, es un poliol incoloro, inodoro y soluble en agua, formador de soluciones neutras y aprobadas por la FDA para aplicarse en alimentos sin riesgo alguno. Su fórmula química es $C_3H_8O_3$ y su peso molecular es 92.09 (Morales, 2011).

El glicerol es el plastificante más utilizado en la elaboración de recubrimientos y películas comestibles, adicionado generalmente a bajas concentraciones, ya que, de lo contrario, el plastificante influye negativamente en la permeabilidad de las películas (Morales, 2011).

Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos, al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros, reduciendo los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros y aumentando el espacio intermolecular (Madrid, 2017).

2.3 MECANISMOS DE FORMACION DE PELICULAS COMESTIBLES

En la formulación de películas y recubrimientos se necesita el uso de por lo menos un componente capaz de formar una matriz estructural con suficiente cohesividad. Las sustancias formadoras de películas crean una estructura continua mediante interacciones entre moléculas bajo la acción de un tratamiento químico o físico (Ávila y López, 2008). La formación de una película o recubrimiento involucra uno de los siguientes procesos.

2.3.1 Eliminación del solvente

Los componentes principales de la película se dispersan en un solvente que posteriormente se elimina en un proceso de secado, donde la temperatura y el tiempo influyen en la cristalinidad resultante y en las propiedades mecánicas (Mendez, 2005).

2.3.2 Solidificación de la mezcla

Es una técnica muy empleada para los films lipídicos, consiste en la solidificación de la masa fundida. Como en el caso anterior, la tasa de enfriamiento influye en el estado polimórfico predominante, muy importante, pues de éste dependen las resistencias a las permeabilidades de oxígeno y vapor de agua; así como en el grado de recristalización del film solidificado (Mendez, 2005).

2.3.3 Extrusión

Se emplean altas temperaturas, presión y agitación mecánica vigorosa que facilita la integración de los aditivos (Márquez *et al.*, 2015).

2.3.4 Coacervación

Consiste en un cambio de estado del polímero formador. Puede ser simple o compleja, la primera se da la precipitación del hidrocoloide aplicación de calor, alteraciones del pH, añadiendo solventes. En la compleja se altera la carga, poniendo en contacto dos macromoléculas que se neutralizan entre ellas. Esta no es una técnica muy usada en el sector de la alimentación (Mendez, 2005).

2.3.5 Gelificación o coagulación térmica

Son utilizadas para las películas elaboradas a partir de hidrocoloides, pues se produce un calentamiento de la solución, lo cual da lugar a una estructura tridimensional o estado gel. Luego el solvente se elimina por evaporación. (Guzmán *et al.*, 2015).

2.4 PROPIEDADES

Las películas comestibles tienen diferentes funciones entre las cuales pueden retardar la migración de humedad, controlar el transporte de gases (O_2 , CO_2 y etileno), retener componentes volátiles, servir de vehículo de aditivos, mejorar las propiedades mecánicas y de manejo del alimento, además de impartir una mayor integridad a la estructura del mismo, manteniendo las buenas propiedades mecánicas y organolépticas de los alimentos (Rubio y Guerrero, 2012) En la figura (1) se muestra de forma esquemática los posibles intercambios que se pueden dar entre el alimento recubierto con el film y el exterior.

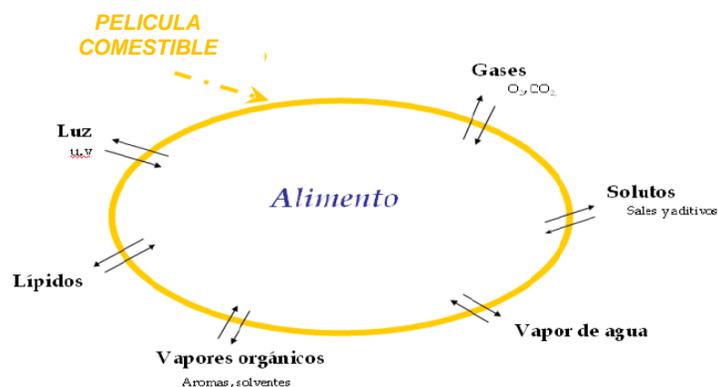


Figura 1. Efecto barrera de los recubrimientos y películas comestibles aplicados a alimentos. Adaptado de (Marzo, 2010)

Las películas comestibles desempeñan una doble función; de embalaje y como constituyentes del alimento para lo cual han de cumplir una serie de condiciones, como son:

- Buenas propiedades sensoriales y organolépticas, compatibles con la naturaleza del alimento.
- Solubilidad y dispersabilidad en su preparación y posterior consumo.
- Propiedades mecánicas y protectoras adecuadas.
- Estabilidad suficiente.
- Buena adhesión a la superficie del alimento.
- No toxicidad (Mendez, 2005).

Las películas comestibles poseen también numerosas ventajas:

- Pueden ser ingeridas por el consumidor.
- Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental. Al ser material biodegradable colabora en la gestión medioambiental, implicando un menor impacto.
- Pueden ser usados como barreras a gases y al vapor de agua. Debido a que restringe la pérdida de humedad y disminuye la respiración.
- Ofrecen protección frente a agentes microbianos, así como frente a agentes externos (agua, oxígeno, etc).
- También pueden mejorar las propiedades mecánicas de mantenimiento o la integridad estructural de los productos alimenticios (Marzo, 2010).

2.5 CACAO (TEOBROMA CACAO)

Cacao es el nombre común que se le da al árbol *Theobroma cacao* y a los frutos del mismo. El grano de cacao es la materia prima principal de diferentes sectores de la industria alimenticia como confitería y chocolates, además de un insumo natural para la industria cosmética (Mendoza *et al.*, 2017).

El árbol de cacao o cacaotero pertenece a la familia de las Esterculáneas, es una planta de origen tropical, nativo de América tropical, particularmente en una franja que se extiende desde Brasil hasta México, también presente al oeste de África. Posee una altura entre los 6 y 10 metros, requiere de zonas húmedas y temperaturas entre 20-30°C para su óptimo desarrollo. Necesita de sombra, por lo cual es común su crecimiento cercano a árboles más grandes (Betancourt, 2009).

Botánicamente el fruto del cacao es una drupa, pero comúnmente se le llama mazorca. La forma varía desde ovalada hasta esférica. Las semillas se encuentran

cubiertas por una pulpa ácida azucarada y son planas o redondeadas; con cotiledones blancos o morados (Hernandez y Calderon, 2006).

2.5.1 Variedades

Los cacaos cultivados se pueden clasificar basándose fundamentalmente en las características morfológicas de órganos como la flor, la semilla y el fruto, se aceptan cuatro grandes grupos como son, el criollo, forastero, trinitario, y los clones entre estos especialmente la variedad CCN-51 (Bazarte, 2006).

2.5.1.1 Tipo Criollo

Se caracterizan por producir mazorcas de color rojo o amarillo cuando maduran, con una superficie muy rugosa, conspicuamente punteada y generalmente con diez surcos profundos y de paredes delgadas y fáciles de cortar; las semillas son rollizas, de sección casi redonda, mientras que los cotiledones son de color blanco o violeta pálido. Es de resaltar que los caracteres del grano (forma y color de los cotiledones) son los más importantes, ya que los de las mazorcas presentan una cierta variabilidad encontrándose cultivares criollos con mazorcas que pueden tener un extremo redondeado y una superficie casi lisa. La fama de los criollos radica en que proporcionan lo que comercialmente se designa por cacao fino, un cacao muy aromático y con tan solo un ligero amargor, utilizado en chocolatería para la fabricación de productos de lujo. A pesar de sus óptimas cualidades, los criollos ya casi no se cultivan, encontrándose aún en algunas plantaciones en México, Nicaragua, Guatemala, Colombia, Venezuela, Madagascar, Comoras, Ceilán, Java e islas Samoa (Betancourt, 2009).

2.5.1.2 Tipo Forastero

Presentan mazorcas de color verde (amarillo en la madurez), con zurcos poco pronunciados, superficie desde levemente rugosa hasta lisa, extremo redondeado o de punta muy corta y una capa leñosa difícil de cortar; las semillas son más o menos aplanadas y los cotiledones frescos son de color violeta oscuro y algunas veces casi negro. Como en el tipo Criollo, los caracteres de las semillas son los más importantes y constantes en relación a la mazorca, pero no invariables. A este grupo pertenecen algunos cacaos de Brasil y del oeste africano, así como el cacao "Nacional" del Ecuador y numerosos cultivares encontrados en los diferentes países de América Central y del Norte de América del Sur. El tipo Forastero presenta mayor productividad y resistencia a plagas y enfermedades en relación al tipo Criollo, sin embargo, los granos obtenidos corresponden a cacaos ordinarios, utilizados en la fabricación de manteca de cacao y productos de chocolate con alta proporción de cacao (Bazarte, 2006).

2.5.1.3 Tipo Trinitario

Las poblaciones que conforman este grupo se originan del cruce entre Criollo y Forastero, lo que origina alta heterogeneidad morfológica y genética, por consiguiente, sus características botánicas consisten en una mezcla de los dos progenitores, entre ellas cotiledones morado claro, semillas grandes, medianamente astringentes, mazorcas de color morado o verde y pigmentadas de morado. Se conoce que en la actualidad el tipo Trinitario proporcionan del 10 al 15% de la producción mundial de cacao y se cultivan básicamente en todos los países donde anteriormente se cultivaba el tipo Criollo, entre ellos México, América Central, Trinidad, Colombia y Venezuela. De manera semejante al tipo Criollo, los granos obtenidos corresponden en el mercado mundial al cacao fino o de aroma, utilizados para dar ciertas características de aroma o color en los chocolates finos (Bazarte, 2006; Betancourt, 2009).

2.5.1.4 Clon CCN-51

La variedad conocida comúnmente como CCN-51 (Colección Castro Naranjal - 51), es la unión de dos clones híbridos ICS-95 x IMC67 (Imperial College Selection e Iquitos Mixed Cabacillo), entre los que destaca la presencia del cruce de las tres variedades criollo, trinitario y forastero, aunque su calidad es más próxima al criollo (Tapia, 2015).

Esta variedad de cacao tiene un rendimiento más alto comparado con el criollo; desde la siembra hasta el secado del grano, este clon puede ser utilizado como cacao de calidad para la elaboración de productos. Ya que posee un índice de semilla de 1.54 gramos y un alto contenido de grasa, lo cual lo hace adecuado para la extracción de manteca. Sus características favorecen un alto rendimiento industrial (Carrion, 2012).

2.5.2 Partes y subproductos cacao

El fruto de cacao es llamado comúnmente mazorca y corresponde botánicamente a una baya drupácea grande de aproximadamente 25 cm de largo, con un contenido de semilla entre 20 y 40, incluso hasta 50 unidades y cuya forma varía entre globosa, ovoide y elipsoide, con sus extremos redondeados o puntiagudos. La superficie del fruto puede ser lisa o rugosa con 5 a 10 lomos superficiales o profundos y al madurar se torna de color amarillo claro o rojo – anaranjado, según sea la coloración de la mazorca tierna, verde o morada, respectivamente. El pericarpio de este fruto está representado por la cáscara que es bastante carnosa y está compuesto por tres partes bien diferenciadas, el epicarpio o exocarpio, carnoso y espeso, cuyo estrato epidérmico exterior puede estar pigmentado, el mesocarpio, más o menos lignificado y el endocarpio, carnoso, más o menos espeso. Las semillas se hallan

colocadas en cinco filas sobre la placenta central, conociéndose que su número, tamaño y forma es una característica varietal, donde la longitud oscila entre 15 a 40 mm y el diámetro de 10 a 22 mm y están recubiertas con un mucílago gelatinoso de color blanquecino y de sabor agridulce. Su forma puede ser aplanada, triangular, elipsoide, ovoide y rolliza (Betancourt, 2009; Guerrero *et al*, 2017).

Los granos de cacao son las semillas del árbol *Theobroma cacao*. Cada semilla consta de dos cotiledones y del pequeño embrión de la planta, todos cubiertos por la piel (cáscara). Los cotiledones almacenan el alimento para el desarrollo de la planta y dan lugar a las dos primeras hojas de la misma cuando la semilla germina. El almacén de alimentos consta de grasa, conocida como manteca de cacao, que conforma casi la mitad del peso seco de la semilla. La cantidad de grasa y sus propiedades, tales como su punto de fusión y dureza, dependen de la variedad de cacao y de las condiciones ambientales. Las semillas son fermentadas, lo que causa diversos cambios químicos tanto en la pulpa que las rodea como dentro de ellas mismas (Pérez, 2004).

La producción de cacao se dirige al aprovechamiento de la semilla, que representa un 10% del peso del fruto fresco, mientras que la cáscara y mucilago constituye cerca del 90% del total de la mazorca, siendo principalmente materiales de desecho de la explotación cacaotera (Luzuriaga, 2012).

2.5.3 Uso industrial y culinario de los subproductos del cacao

Industrialmente se han propuesto alternativas de uso para aumentar el valor agregado de la cáscara de cacao y mucilago entre las que se destacan:

2.5.3.1 Aporte de materia orgánica

La cáscara de cacao es una fuente de materia orgánica y es usada con frecuencia para suministrar nutrientes a suelos cultivados. Esta labor implica una etapa de transporte y almacenamiento, además de un tiempo prudente para la descomposición originando gastos extras y problemas de espacio. Unido a ello, el uso directo de la cáscara sin una etapa previa de descomposición es considerado un foco para la propagación de plagas, causa principal de pérdidas económicas de la actividad cacaotera mundial (Betancourt, 2009).

2.5.3.2 Alimentación animal.

La cáscara de cacao se caracteriza por presentar un alto contenido de carbohidratos y minerales y bajo contenido de proteínas, composición semejante a la de los forrajes, de allí que pueda ser considerada una alternativa para la alimentación del ganado. Los estudios realizados sobre la alimentación de ganado vacuno utilizando

harina de cáscara de cacao han indicado una pobre digestibilidad de la materia orgánica y la proteína, sin embargo, esta situación es compensada por el aumento de la palatabilidad que se transforma en una ingesta de mayor cantidad de raciones. Se ha sugerido que la cáscara de cacao puede proveer ventajas en granjas mixtas de explotación de cacao y producción de ganado, aunque el alto costo generado por la energía requerida para el proceso de secado puede ser un factor limitante. Se ha logrado sustituir la alimentación tradicional por la cáscara de cacao fresca hasta un 100% sin observar la presencia de desórdenes nutricionales en los animales bajo estudio. En contraste, la rápida descomposición del material fresco propicia la aparición de micotoxinas que pueden afectar en forma perjudicial al animal alimentado (Bazarte, 2006).

2.5.3.3 Fuente de fibra

Tapia, (2015), señala algunas investigaciones vinculadas a la evaluación del uso de cascarilla de cacao y su efecto en el colón debido al aporte de fibra en pacientes con estreñimiento, la cáscara y la testa por su contenido son buenas fuentes de fibra dietaría insoluble, mientras que el mucílago es una buena fuente de fibra dietaría soluble, el residuo de cacao con la mejor relación Fibra dietaría Insoluble: Fibra dietaría Soluble es la testa (2,2:1,0 a 2,9:1,0), ideal para uso como ingrediente directo en la formulación de alimentos.

2.5.3.4 Fuente de antioxidantes

Tapia, (2015), sugiere que el consumo de cascarilla de cacao podría acarrear efectos beneficiosos para la salud como el obtenido con algunas semillas, frutas y vegetales, siendo una fuente importante de antioxidantes naturales, los cuales han sido objeto de estudio por inactivar los radicales libres del proceso de oxidación del organismo, previniendo la aparición de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas, entre otras.

2.5.3.5 Desarrollo de productos alimenticios

Como actividad industrial el uso del mucílago se utiliza para la fabricación de mermeladas a nivel casero debido al alto contenido de pectinas de la pulpa, por sus cualidades también es aprovechado para la elaboración de postres y vinos (Alaniz *et al.*, 2012).

2.5.3.6 Desarrollo de clarificantes

Se ha utilizado mucílago pulverizado a partir de la cáscara de cacao para el uso en la industria panelera como coagulante en el proceso de clarificación de jugos de panelas, debido al alto contenido de pectinas del mismo, permitiendo la aglutinación

de las impurezas causantes del color. El mucilago por sus cualidades también es aprovechado para la elaboración de postres y vinos (Alaniz *et al.*, 2012).

2.5.3.7 Fuente de pectinas

La composición química del de cacao de acuerdo con Tapia, (2015), arrojó valores de celulosa 17,39%, hemicelulosa 6,38%, pectinas 19,62% y lignina 32,4%, identificando que el contenido de pectinas se encuentra dentro del intervalo 12,50 – 45%, lo cual le convierte en una posible fuente de pectinas de uso industrial y comercial.

Se ha logrado extraer pectinas del endocarpio de cacao con un rendimiento de 8,0% en base seca, un grado de esterificación de 61,8% y una baja tasa de gelificación. Por su parte, se ha realizado una extracción ácida de pectina de cáscara de cacao con un rendimiento de 8,0 a 11,0% en base seca. Adicionalmente, sugieren el uso de las de pectinas de cáscara de cacao en conjunto con las gomas para la elaboración de adhesivos en la industria farmacéutica (Bazarte, 2006).

- Extracción pectina subproductos cacao

La cáscara de cacao y el mucilago se han considerado como una fuente no convencional de pectina, especialmente las variedades tipo Criollo y Forastero que se han sido estudiadas demostrándose que posee un potencial péctico utilizable industrialmente (Betancourt, 2009)

El proceso de extracción de pectina se desarrolla básicamente en dos fases, la despolimerización de la protopectina para transformarla en pectina y la difusión de la pectina solubilizada desde la matriz del tejido vegetal hacia la solución extractante. Paralelamente una fracción de la pectina solubilizada se degrada en componentes de menor peso molecular afectando negativamente tanto el rendimiento como las propiedades gelificantes del producto. La extracción de pectina persigue la producción máxima de producto con las características deseables (en términos de capacidad gelificante), al mismo tiempo que se generen costos mínimos (Guerrero *et al.*, 2017)

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una película comestible empleando como componente base la pectina de subproductos del cacao (CCN 51) como alternativa de aprovechamiento.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1 Determinar el proceso de extracción de la pectina en los subproductos del cacao.
- 3.2.2 Estudiar el efecto de los componentes de las películas comestibles en sus propiedades físicas y químicas.
- 3.2.3 Establecer la película comestible a base de pectina de cacao.

4. MATERIALES Y METODOS

A continuación, se presentará la metodología que se ejecutó para cumplir las actividades propuestas por los objetivos durante el desarrollo del proyecto de investigación.

4.1 OBTENCIÓN DE LA PECTINA DE CACAO PULVERIZADA

Se utilizó como materia prima la variedad de cacao CCN-51, para la formación de películas, esta fue cultivada en el municipio de arauquita, departamento de Arauca (Colombia). Los frutos se seleccionaron teniendo en cuenta el estado de madurez fisiológica.

4.1.1 Recolección y desgranado de mazorcas

La cosecha se realizó en la vereda la pica en el municipio de arauquita, esta se llevó cabo cuando las mazorcas presentaron un color rojo que se torna anaranjado, y que al ser golpeado el fruto produjera un sonido hueco. También se tuvo en cuenta en la práctica de cosecha, evitar los cortes innecesarios a los cojinetes florales y ramas (Pabon, 2016). El producto recolectado fue transportado al laboratorio de investigaciones GINTAL de la Universidad de Pamplona. Las mazorcas fueron seleccionadas separando las sanas de las enfermas para beneficiar solamente los granos sanos y no dañar la calidad del producto final.

La quiebra o partida de las mazorcas se realizó mediante un corte longitudinal, evitando dañar los granos (Pabon, 2016), retirando manualmente las almendras de la mazorca y cada una de los subproductos, cascarilla, mazorca y mucilago.

4.1.2 Ensayos previos para la definición del subproducto del cacao a emplear en la obtención de la pectina

A escala de laboratorio se determinó mediante ensayos previos cuál de los subproductos de cacao, mazorca, cascara y mucilago, fue el que presento mayores sustancias pépticas, debido a que en los referentes no se encuentra establecido claramente cuál de estos subproductos del cacao presenta mayor contenido de pectinas. La definición de este material se realizó partiendo de las variables de respuesta determinación de sustancias pépticas, contenido de pectina, determinación de pectinas solubles en agua.

4.1.2.1 Determinación de sustancias pécticas totales

Se determinó el contenido de pectina en las muestras secas de mazorca, mucilago y cascara de cacao aplicando el método utilizado por Bazarte, (2006).

- Extracción de las sustancias pécticas.

Se pesó 1 gramo de muestra y se mezcló con 150 ml de etanol al 95%, este se dejó en reposo durante 60 minutos con agitación y se filtró por medio de un papel filtro Whatman N° 1. Seguidamente el residuo retenido en el papel filtro se lavó con 150 ml de etanol al 95% y luego con etanol al 70% hasta comprobarse la eliminación de los azúcares disueltos mediante la prueba de Molish. El residuo fue suspendido en 150 ml de EDTA al 0,5%, ajustándose el pH a 11,5 con NaOH 1N y se dejó en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se ajustó el pH a 5,0 - 5,5 con ácido acético 1N y se añadió 0,05 g de enzima pectinasa, posteriormente se mezcló bien adicionando unas gotas de tolueno, esta solución se dejó en reposo toda la noche a 0°C. Al día siguiente se llevó a volumen de 500 ml y se filtró en papel Whatman N° 1, descartándose los primeros mililitros. Posteriormente, se tomó una alícuota de 25 ml y se llevó a volumen de 100 ml., donde el producto final estuvo conformado de solución de ácido anhidrogalacturónico (AGA) (Bazarte, 2006).

- Determinación de pectinas solubles en agua

Se pesó 1,0 g de la muestra y se mezcló con 150 ml de etanol al 95%, posteriormente se dejó en reposo durante 60 min con agitación y se filtró en papel filtro Whatman No 1. El residuo retenido en el papel de filtro fue lavado con 150 ml de etanol al 95% y luego con etanol al 70% hasta comprobarse la eliminación de los azúcares disueltos mediante la prueba de Molish. El residuo fue suspendido en 120 ml de agua destilada y se dejó reposar durante 60 min con agitación ocasional a temperatura ambiente. La solución obtenida se llevó a un volumen de 200 ml y se filtró en papel Whatman No 1 y descartandose los primeros mililitros de filtrado. Posteriormente, se tomaron 20 ml de filtrado, se le agregaron 50 ml de solución de NaOH 0,05 N, esta se dejó en reposo durante 30 min a temperatura ambiente para la esterificación de la pectina y luego se llevó a un volumen de 100 ml con agua destilada. De esta última solución se tomaron 2 ml y se determinó el contenido de pectina mediante el procedimiento que se describe a continuación (Bazarte, 2006).

- Determinación del contenido de pectina

En un tubo de ensayo se colocaron 12 ml de ácido sulfúrico concentrado conteniendo ácido bórico (6 mg/ml), este fue sumergido en un baño de hielo durante 5 minutos. Posteriormente, se adiciono lentamente 2 ml de la solución AGA y se mezcló, dejándose en reposo 15 minutos a temperatura ambiente. Terminado ese

tiempo, se colocó en baño termostático a ebullición durante 10 minutos y se enfrió inmediatamente en baño de agua fría hasta temperatura ambiente. Seguidamente se agregó 1 ml de solución de etanol al 95% y se dejó en reposo 25 minutos a temperatura ambiente, por medio de un espectrofotómetro, se leyó la absorbancia a 520 nm. Se utilizó una curva estándar para obtener la concentración de AGA. Para calcular el contenido de pectina, se multiplicó el contenido de AGA por 0,908 (Bazarte, 2006).

- Elaboración de la curva estándar AGA

Se pesaron 120,5 mg de ácido anhidrogálico monohidratado seco al vacío durante 5 horas a 30 °C, se le añadieron 0,5 ml de NaOH 1N y se disolvió en agua destilada. Esta solución fue llevada a un volumen de 1000 ml (100 µg de AGA/ ml), se mezcló y se dejó en reposo toda la noche. Posteriormente se tomaron alícuotas de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 ml llevándose a volumen de 100 ml. Donde posteriormente se llevó a cabo la reacción con ácido sulfúrico y solución alcohólica leyéndose la absorbancia a 520 nm. Se elaboró una curva absorbancia vs contenido de AGA (Bazarte, 2006).

4.1.3 Extracción de la pectina del subproducto de cacao establecido

Del numeral 4.1.2 se estableció el subproducto a emplear en la extracción de la pectina, realizando el procedimiento que se describe a continuación.

El proceso de extracción de pectina consta de tres etapas. La primera etapa, fue el tratamiento del material crudo, una segunda etapa la solubilización o hidrólisis de la pectina por calentamiento en solución ácida, una tercera etapa que pertenece a la clarificación y filtración, purificación y secado del producto.

4.1.3.1 Acondicionamiento y tratamiento del material

El acondicionamiento y tratamiento se realizó para el material (cascará) que ha sido seleccionado en el numeral 5.1.2, tomando la metodología adecuada del subproducto tal y como se menciona a continuación.

- Extracción de la mazorca

La mazorca se extrajo cuando se ejecutó el desgrane y se realizó la separación del grano y mucilago. Una vez obtenida la mazorca, esta fue separada de la cascara (exocarpio), del mesocarpio y del endocarpio, siendo estos dos últimos el material objeto de estudio. Seguidamente se lavó y escaldó a (90 °C, 10 min) (Mendoza *et al.*, 2017), para la inactivación de enzimas, esta materia prima fue secada a (60 °C; 48 h), y molida para la reducción de tamaño y tamizado (Bazarte, 2006).

- Extracción de la cascara

La separación de la cascara se realizó en conjunto con la del mesocarpio y endocarpio, a esta se le efectuó un lavado y escaldado (90 °C, 10 min) para la inactivación de enzimas. Terminado este procedimiento, se llevó a cabo el secado a (60 °C; 48 h) y molido del material para la reducción de tamaño y tamizado (Mendoza *et al.*, 2017).

- Extracción del mucilago

La extracción del mucilago del cacao fue realizada por medio de un tamiz de acero inoxidable de 35 cm de diámetro, cuya malla tenía orificios circulares de 2 mm de diámetro. El tamiz se ubicó dentro del recipiente a depositar el grano, cuando se ejecutó el desgrane, debido al fácil desprendimiento de la materia viscosa, obteniéndose así un mucilago fresco. Este método se ejecutó aplicando presión con las manos para acelerar la extracción. Posteriormente, este se llevó a secar en un túnel de secado a 60 °C por 12 horas (Vallejo *et al.*, 2016).

4.1.3.2 Hidrolisis de la pectina

Debido a que existe una gran diversidad de variables operacionales en los procesos de extracción, se realizaron ensayos preliminares con el fin de definir las variables independientes tales como pH, tiempo de hidrolisis, tiempo de cocción y temperatura de secado, dado que estas se implican directamente con las variables de respuesta grado de metoxilación y de esterificación.

- Hidrolisis y obtención de la pectina a diferentes condiciones

Una vez extraído y determinado cual es el mejor material, se procedió a aplicar varios tratamientos presentados en la tabla 2. Utilizando los métodos evaluados por (Bazarte, 2006; Betancourt, 2009; Guerrero *et al.*, 2017; Mendoza *et al.*, 2017), con algunas modificaciones. Se utilizaron dos porciones de 30 g del material deshidratado y molido, estos se separaron en vasos de precipitado de 1000 ml y se mezclaron con 800 ml de EDTA al 0,5%. Posteriormente se ajustó el pH con ácido clorhídrico 1 N o NaOH 1 N, según el caso y se calentó a 90 minutos en baño termostático a la temperatura deseada, según las condiciones de trabajo presentadas en la tabla 1. Se utilizó un baño de hielo para enfriar rápidamente la solución hasta temperatura ambiente y se filtró en lienzo. Los sólidos de cada dispersión fueron unidos y colocados en un vaso de precipitado de 1000 ml, estos se dispersaron con 600 ml de agua destilada para posteriormente ajustar el pH y repetir el proceso de extracción. Todos los extractos se unificaron y se centrifugaron a 5000 RPM durante 15 min para separar sólidos en suspensión. El extracto obtenido se mezcló con 1,5 volúmenes de etanol al 95% conteniendo HCl al 1,0%, este se dejó reposar durante 15 horas para luego separar el precipitado por

centrifugación a 5000 RPM por 10 min. El residuo fue lavado dos veces con 500 ml de etanol al 70% separando por centrifugación a 5000 RPM por 10 min. El lavado se repitió una vez más con etanol al 95% y luego con 300 ml de acetona. El precipitado fue prensado manualmente utilizando un guante de goma y se colocó en una cápsula de vidrio sometándose a secado en un túnel de secado automatizado controlándose la temperatura 40 °C y velocidad de secado hasta peso constante. La pectina fue llevada a un mortero para su pulverización (González, 2011).

Tabla 2. Condiciones de pH y temperatura empleadas en la extracción de la pectina

| Tratamiento | pH | Temperatura (°C) |
|-------------|----|------------------|
| 1 | 2 | 50 |
| 2 | 2 | 70 |
| 3 | 2 | 90 |
| 4 | 3 | 50 |
| 5 | 3 | 70 |
| 6 | 3 | 90 |
| 7 | 4 | 50 |
| 8 | 4 | 70 |
| 9 | 4 | 90 |

4.1.3.3 *Peso equivalente*

Se desarrolló la metodología recomendada por (Bazarte, 2006), donde se pesaron 0,3 g de pectina y se humedecieron con 1 ml de etanol al 95%, posteriormente se agregó 1,0 g de NaCl y 100 ml de agua destilada. Después se mezcló bien, la dispersión y se tituló con NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 7,5 empleando un potenciómetro, la solución final (neutra) fue guardada para su uso posterior en la determinación del contenido de metoxilo y grado de esterificación. Los resultados se expresaron como gramos de pectina por equivalente de H⁺ y fueron calculados por la siguiente expresión:

$$PE = \frac{PM \times 1000}{Vol \times N}$$

PE: Peso equivalente (g/equivalente de H⁺)

PM: Peso de la muestra (g)

Vol: Volumen de NaOH gastado (ml)

N: Normalidad del NaOH (≈0,1)

4.1.3.4 Contenido de metoxilo

Se aplicó el método de (Bazarte, 2006) basado en la cuantificación, a través de una titulación por retroceso, del número de equivalentes de NaOH que reaccionan con la pectina produciendo la saponificación de los grupos metoxilos. A la solución neutralizada procedente de la determinación del peso equivalente se le añadieron 10 ml de solución de NaOH 0,25 N, se mezclaron y dejaron en reposo durante 30 min. Se añadieron 10 ml de solución de HCl 0,25 N, se mezcló y luego se tituló con solución de NaOH 0,025 N hasta pH de 7,5 empleando un potenciómetro. El contenido de metoxilo se expresó como gramos de metoxilo por 100 gramos de pectina y se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$CM = \frac{[VOL1 \times N1 + 10 \times (N2 - N3)] \times 3,1}{PM}$$

donde:

CM: Contenido de metoxilo expresado en gramos por peso de la muestra.

Vol1: Volumen de NaOH gastado durante la titulación expresado en mililitros.

PM: Peso de la muestra de pectina en gramos.

N1: Normalidad del NaOH utilizado durante la titulación.

N2: Normalidad del NaOH utilizado durante la saponificación ($\approx 0,25$).

N3: Normalidad del HCl ($\approx 0,25$)

4.1.3.5 Grado de esterificación

Se utilizó la metodología indicada por (Bazarte, 2006), basada en la saponificación de los grupos metoxilos presentes en la pectina. A la solución neutralizada, según procedimiento de determinación del peso equivalente, se le añadieron 10 ml de solución de NaOH 0,5 N, se mezcló y se dejó en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente se le agregaron 10 ml de solución de HCl 0,5 N y se mezcló. Finalmente, se tituló con una solución de NaOH 0,1 N hasta pH 8,0 usando un potenciómetro. Los resultados se calcularon por la siguiente ecuación:

$$GE = \frac{CE}{CT} \times 100$$

$$CT = CE + CSE$$

$$CSE = VOL1 \times N1 \times 0,045$$

$$CE = [VOL2 \times N2 + 10 \times (N3 - N4)] \times 0,045$$

Donde:

GE: Grado de esterificación expresado porcentaje de grupos carboxilos esterificados con respecto al número total de grupos carboxilos totales.

CE: Peso de los grupos carboxilos esterificados expresado en gramos.

CSE: Peso de los grupos carboxilos sin esterificar expresado en gramos.

CT: Peso de los grupos carboxilos totales expresado en gramos.
Vol1: Volumen de NaOH utilizados inicialmente para llevar la solución a pH 7,5.
($\approx 0,1$).
N1: Normalidad del NaOH utilizado inicialmente para llevar la solución a pH 7,5
Vol2: Volumen de NaOH utilizados para llevar la solución a pH 8,0.
N2: Normalidad del NaOH utilizado para llevar la solución a pH 8,0 ($\approx 0,1$).
N3: Normalidad del NaOH utilizado durante la saponificación ($\approx 0,5$).
N4: Normalidad del HCL ($\approx 0,5$).

4.2 ESTUDIO DEL EFECTO EN LOS COMPONENTES DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

Como aún no se ha desarrollado una metodología para la elaboración de películas comestibles a base de pectina extraída de los subproductos del cacao, se realizaron diferentes concentraciones de las soluciones pécticas, para determinar cuál es la que puede generar un mejor film.

Una vez determinado el mejor subproducto de cacao y tratamiento para la extracción de la pectina, se estableció una variación en la relación peso/volumen que se utilizó como matriz para la formación de la película comestible, igualmente se realizó una mezcla de componentes propuesta por González, (2011), evaluando las propiedades físicas y químicas que estas presentan.

4.2.1 Variación de la relación peso volumen de la pectina a emplear

Se estableció una variación en la relación peso/ volumen de la pectina, donde se identificó cual es la mejor, partiendo de tres concentraciones 0,5% (w/v), 1,0% (w/v), 2,0% (w/v) de acuerdo con González, (2011) y Moncayo, (2013), quienes identifican estas concentraciones como ideales en la formación de películas comestibles a base de pectina. Las dispersiones se prepararon en un baño termoestático (80 °C) por 10 minutos homogenizando a 7200 RPM. Posteriormente se efectuó una desgasificación en caliente de dicha dispersión, con el propósito de que los gases no condensables no afecten las propiedades finales de los films. Para ello se vierte la solución en un Erlenmeyer en vacío observado que la solución hierva violentamente durante 3 minutos hasta asegurar la ausencia de burbujas

4.2.2 Componentes de la solución filmogénica

Se establecieron tres formulaciones para la formación de las películas, las cuales consistieron en la mezcla de tres componentes bases como los son: la solución de pectina, glicerol y tween 20, donde se sumaron a la dispersión de la solución péctica como se muestra a continuación: APG (solución pectina 0,5% (w/v) – 20 % base seca pectina, Tween 20 - 20 % base seca pectina, glicerol); BPG (solución pectina

1% (w/v) – 20 % base seca pectina, Tween 20 - 20 % base seca pectina, glicerol); CPG (solución pectina 2% (w/v) – 20 % base seca pectina, Tween 20 - 20 % base seca pectina, glicerol), posteriormente se continuo con la formación y secado de las películas (González, 2011).

4.2.2.1 Formación y secado de las películas comestibles

Una vez obtenida las soluciones filmogénicas fueron formadas en una caja de Petri donde se vertieron 50 ml, posteriormente se dispuso en un túnel de secado a 60 °C durante 12-18 H (Marzo, 2010)

4.2.3 Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles.

Ya obtenidas las películas comestibles, se procedió a realizar una serie de análisis físicos y químicos, para evaluar las propiedades que los componentes y la variación de concentración proporcionarán a los films.

4.2.3.1 Espesor

El espesor de las películas se midió con un micrómetro electrónico. Donde se tomó medidas en 4 posiciones aleatorias en el centro y la periferia de la película (Mendez, 2005).

4.2.3.2 contenido de humedad

El contenido de humedad de las películas se determinó midiendo la pérdida de peso de las películas, las cuales se secaron en una balanza de humedad marca (ohaus) a 110°C durante 2 h (Moncayo, 2013).

4.2.2.3 Permeabilidad al vapor de agua (pva)

Se utilizó un método de determinación gravimétrica para evaluar la permeabilidad de vapor de agua de cada película propuesto por Mendez,(2005). Las películas se colocaron a temperatura ambiente encima de recipientes cilíndricos a modo de tapa, con 6 ml de agua destilada cada uno y se colocaron en un desecador con silica gel activada a una velocidad mínima de 2,5 m/s proporcionada por un ventilador encima de la cabina que generará una corriente de aire que circulará a modo continuo a través de toda la campana. Se registrará la pérdida de peso de cada recipiente cada media hora, hasta alcanzar un estado pseudoestacionario a las 2-3 h. la tasa de transmisión de vapor de agua se calculará a partir de la curva de la pérdida de peso en función del tiempo, tomando en consideración la superficie de la película expuesta, así dicho valor se obtiene mediante la fórmula siguiente.

WVTR: pendiente recta/ área del film

Una vez obtenida la transmisión de vapor de agua para el estado estacionario, la permeabilidad de la misma será fácilmente determinada:

WVP: WVTR*espesor/ ($P_{A1}-P_{A2}$)

P_{A1} y P_{A2} son las presiones parciales del vapor de agua dentro y fuera de los recipientes. La presión parcial del vapor de agua por encima del film se considera nula, por la presencia de sales desecantes y la intensidad de la renovación del aire mediante el ventilador. Por debajo de la película, el aire es expuesto a una alta HR, esta no alcanza el valor de 100%, dado el carácter hidrofílico del film impide llegar a un equilibrio. Será por tanto menor dicha humedad.

4.3 DEFINICION DE LA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE PECTINA DEL CACAO.

La definición de la película comestible se realizó partiendo de los resultados obtenidos en numerales 4.1 y 4.2, los cuales serán analizados estadísticamente teniendo cómo variables de respuesta la permeabilidad de vapor de agua, el espesor de las películas y los posibles factores de influencia que para este caso son los componentes de la película, glicerol, tween 20. se aplicó el análisis de la varianza (anova) para evaluar el efecto causado por uno o más factores en uno o más propiedades de estudio. se aplicará el test de comparación de Fischer para corroborar entre que niveles de un factor existen dichas diferencias

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 OBTENCIÓN DE LA PECTINA DEL CACAO PULVERIZADA

Para la obtención de la pectina de cacao pulverizada, inicialmente se evaluaron los componentes del cacao (mazorca, cascara, mucilago y almendra) características de peso, rendimiento y humedad. Posteriormente se realizaron ensayos para la definición del subproducto o componente del cacao a emplear de acuerdo a la pectina presente.

5.1.1 Análisis del fruto

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de la distribución de componentes del cacao variedad CCN-51, donde se observan los valores promedios para pesos y porcentajes. El peso promedio de este cacao es de 751 g, resultados que de acuerdo con Fedecacao, (2012) son característicos de la variedad CCN-51. De los componentes de la mazorca, el mucílago es el que representa una menor proporción.

Teniendo en cuenta las proporciones en composición de la mazorca de cacao se determinó un porcentaje de desechos elevado puesto que la cascara-mazorca y mucilago en conjunto representan el 75,63%, razón por la cual se ha identificado el cacao como un fruto subutilizado. Bazarte, (2006) señala que para la variedad forastero se presenta un porcentaje del 73,5% de desechos, considerando este tipo se subproductos en la actividad cacaotera como una posible fuente de materia prima para la obtención de sustancias pécticas.

Tabla 3. Distribución de pesos y rendimientos de los componentes de las mazorcas de cacao

| Parámetro | Peso (g) | Rendimiento (%) |
|-----------------------|-----------------|-----------------|
| Mazorca completa | 751,365±68,2004 | -- |
| Cascara y mazorca | 484,090±50,8126 | 64,38±0,9192 |
| Mucilago (endocarpio) | 84,465±5,4800 | 11,25±0,2969 |
| Almendra | 182,425±12,4521 | 24,30±0,5444 |

n=10 Resultados expresados como media y desviación estándar

La cascara y la mazorca representan la mayor parte del fruto, 64,38%, aproximadamente 2/4 partes, lo que indica un mayor contenido de desechos por parte de este. Mendoza *et al.*, (2017), enuncia que se genera alrededor de 10,505 ton de cascara/año, lo cual conlleva a un problema ambiental. La mazorca se encuentra conformada de dos partes, el endocarpio parte interna y el pericarpio

parte externa, denominada cascara, esta es utilizada principalmente como material orgánico para la fertilización de cultivos propios, siendo vector de enfermedades, lo que conlleva a importantes pérdidas anuales, sin embargo diversas investigaciones han definido su utilización como fuente de pectina, empleando ácidos fuertes para su extracción, como el ácido clorhídrico y acético, de acuerdo con Bazarte, (2006), su contenido es del 23,4% para la variedad forastera.

Las muestras evaluadas se sometieron a un proceso de deshidratación para facilitar la determinación y extracción de la pectina, inicialmente el pericarpio (cascara), endocarpio (mazorca) y mucilago poseían un contenido de humedad del 89,79%, 92,40% y 74,72%, el cual fue determinante durante el secado ya que este indica el porcentaje de rendimiento y tiempo de secado, identificándose que para las dos primeras se obtuvo un tiempo de secado de 16 h, obteniendo un rendimiento del 10% y 11,42% a diferencia del mucilago que debido a su composición alta en azúcares, dificultó el proceso de secado obteniéndose un tiempo de 72 h y un rendimiento del 15,66%, el contenido final de humedad del pericarpio (cascara), endocarpio (mazorca) y mucilago fue de 11,30%, 15,06% y 14,80% respectivamente.

El contenido de humedad en los alimentos es un índice de estabilidad y calidad, es por ello que el alto valor exhibido por la cáscara y mazorca de cacao fresca permite deducir que es un producto muy susceptible al deterioro. Bazarte, (2006) señala que los subproductos del cacao frescos se descomponen rápidamente, caso aparte el mucilago donde inicia su fermentación debido al contenido elevado de azúcares del 16-18 °Brix (Quimbita *et al.*, 2013), es por esto que en su investigación sugiere la necesidad de deshidratar el material vegetal, usado en la extracción de pectinas para reducir la actividad de las enzimas pécticas, causantes de reacciones de deterioro durante la maduración y el período poscosecha, además de disminuir la velocidad de deterioro, permitir reducir problemas de almacenamiento y transporte facilitando la manipulación de la materia prima. Betancourt, (2009) y Bazarte, (2006), deshidrataron cáscaras y endocarpio de cacao antes de aplicar el proceso de extracción de pectinas, para extraer pectinas de bajo metoxilo.

5.1.2 Determinación y cuantificación de las sustancias pécticas

En la tabla 4 se observa que la cascara o pericarpio fue el componente con mayor contenido de AGA (ácido anhidrogalaturónico), en los dos métodos de cuantificación evaluados, siendo 5,2051 g/100 g en base seca para el EDTA y 7,6153 g/100 g en base seca para el agua, constituyendo la mayor proporción de sustancias pécticas en relación con los demás componentes. La mazorca (endocarpio) presentó 2,3589 g/100 g en base seca para el EDTA y 4,8461 g/100 g en base seca para el agua, muestra con menor contenido de sustancias pécticas determinadas a diferencia del

mucilago donde presento 6,12 g/100 g en base seca para el EDTA y 2,2564 g/100 g en base seca para el agua.

Se determinaron dos métodos de cuantificación debido a que las sustancias pécticas presentes en los frutos, se localizan en el tejido parenquimático y meristemático, siendo las zonas de mayor concentración, la pared primaria de las células y la lámina media, especialmente se encuentran en estado de madurez “verde” donde poseen una sustancia péctica (protopectina), que está asociada a la estructura de la membrana celular por medio de enlaces covalentes y puentes de hidrógeno con la celulosa, hemicelulosa y lignina, principalmente, hallándose altamente esterificada por grupos metoxilo, que la hacen insoluble (Bazarte, 2006), es por esto que se hace necesario una solubilización con etanol al 95% y 70% para garantizar la precipitación de la protopectina y eliminación de azúcares, ya que facilita la realización de una hidrólisis ácida para el caso de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) de esta forma, la presencia de dicho ácido promueve la separación de las cadenas de homogalacturonano, con la subsecuente solubilización de la pectina para su posterior determinación por medio de una curva AGA (Zapata *et al.*, 2009). También se puede determinar este contenido realizando una solubilización en agua ya que el factor que más influye en el proceso de extracción es la temperatura, sus variaciones alteran considerablemente el rendimiento, ya que las altas temperaturas incrementan la hidrólisis de los enlaces de la protopectina (insoluble) y pasando así a pectina soluble en agua, lo que coincide con lo observado en la obtención de pectina de maracuyá, donde se observó que los factores que influyen en la hidrólisis fueron la temperatura como principal factor seguido del tiempo (Púa *et al.*, 2015), es por esto que la cascara presento un mayor contenido de AGA puesto que se realizó una hidrólisis de la muestra anterior a su determinación, el método de cuantificación de ácidos urónicos fue el espectrofotométrico el cual que se basa en la reacción del producto procedente de la acción en caliente del ácido sulfúrico sobre el ácido galacturónico para dar un compuesto coloreado que tiene un máximo de absorbancia en la longitud de onda correspondiente a 520 nm, El uso de este método tiene las ventajas de la sensibilidad y especificidad respecto de los ácidos urónicos en relación con los azúcares solubles, y de estabilidad del color formado en el tiempo (Pagan y Gilabert, 1999).

Tabla 4. Determinación de sustancias pécticas solubles o contenido de AGA en los subproductos del cacao

| Parámetro | AGA (g/100 g, Base seca) EDTA | AGA (g/100 g, Base seca) Agua |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Cascara (pericarpio) | 5,2051±0,0000 ^a | 7,6153±0,1025 ^a |
| Mazorca (endocarpio) | 2,3589±0,0270 ^b | 4,8461±0,0517 ^b |
| Mucilago | 6,1200±0,0000 ^c | 2,2564±0,0260 ^c |

| | | |
|---------|-------|-------|
| p-valor | 0,000 | 0,000 |
|---------|-------|-------|

Resultados expresados como media y desviación estándar de 2 réplicas.

El mayor contenido de pectina en la cascara del cacao se debe a su composición química y la estructura de ubicación, en la lámina media, la cual forma una capa amorfa intercelular entre las paredes primarias de células adyacentes, esta es una zona libre de celulosa y está compuesta por polímeros pécticos, tanto en su forma libre como de sales cálcicas (Pagan y Gilabert, 1999).

Bazarte, (2006), identifico que el contenido de pectina en los subproductos de cacao es mayor en la mazorca (endocarpio) para la variedad forastero, por el hecho de tratarse de un tejido blando formado por abundantes células mucilaginosas y con una gran capacidad de atrapar agua, caso contrario presentado para la variedad CCN-51 donde se observa que su contenido en los dos métodos de determinación es menor en relación con los demás subproductos, estos resultados son semejantes a los dados en el presente estudio para la cáscara y mazorca de cacao, (Suarez y Orozco, 2014), donde se asimila un contenido similar a este. Betancourt, (2009), evaluó el cacao y obtuvo un contenido de pectina en base seca entre 7,54 y 12,0 g/100g, en esta investigación se sugieren la producción industrial de pectina en base a la cáscara de cacao ya que esta presenta un contenido de sustancias pécticas que pudiera ser de interés para su aprovechamiento a nivel industrial.

5.1.3 Extracción de sustancias pécticas del subproducto de cacao establecido

Como se observa en la figura 2, se obtuvieron pectinas bajo nueve tratamientos experimentales, donde se destacó principalmente una coloración parduzca en las muestras tratadas a pH de 4, colores pálidos tipo crema para las tratadas a 50°C, pH 2, 50°C, pH 3 y 90°C, pH 3, las muestras restantes presentaron colores con menor saturación y características parduzcas, lo cual puede atribuirse a la presencia de compuestos fenólicos, cuyo contenido es elevado en el cacao, el cual confiere este tipo de coloración (Suarez y Orozco, 2014).

De igual manera Bazarte, (2006), obtuvo pectinas de color pardo y terroso oscuro para la variedad forastero, señalando que en los tejidos de los cotiledones existen células con pigmentos compuestos de polifenoles (taninos, catequizas, antocianinas, leucoantocianinas), que por oxidación provocan un color pardo característico.

Las condiciones de pH y temperatura de extracción afectan a la coloración de la pectina, a mayor pH y mayor temperatura se obtienen pectinas más oscuras siendo

el pH el más significativo de ellos (Suarez y Orozco, 2014). Una pectina muy seca puede ser resistente a la molienda y presentar un color más oscuro debido a que a mayor temperatura y menor flujo de aire durante el secado mayor será la degradación térmica (Barreto *et al.*, 2017).

Durante la extracción de pectinas, el aumento del pH y la temperatura de proceso provocó mayor velocidad de filtración, observándose que a las temperaturas de 50°C y 70°C la filtración se tornó tediosa y difícil de ejecutar, pero a la temperatura de 90°C las soluciones fueron manipulables. Este hecho puede atribuirse a la presencia de células mucilaginosas en la cáscara deshidratada, las cuales en soluciones acuosas originan características de adherencia, pegajosidad y un aumento de la viscosidad debido a que estas condiciones son las ideales para la formación del gel (Pineda, 2012), provocando la obstrucción de los poros del liencillo utilizado como medio filtrante. Valores altos de pH y temperatura originan mayor ruptura de los enlaces entre las diferentes moléculas presentes en las células mucilaginosas, causando disminución del peso molecular de las mismas y con ello, disminución de la viscosidad y de las propiedades de adherencia y pegajosidad (Bazarte, 2006; Betancourt, 2009).

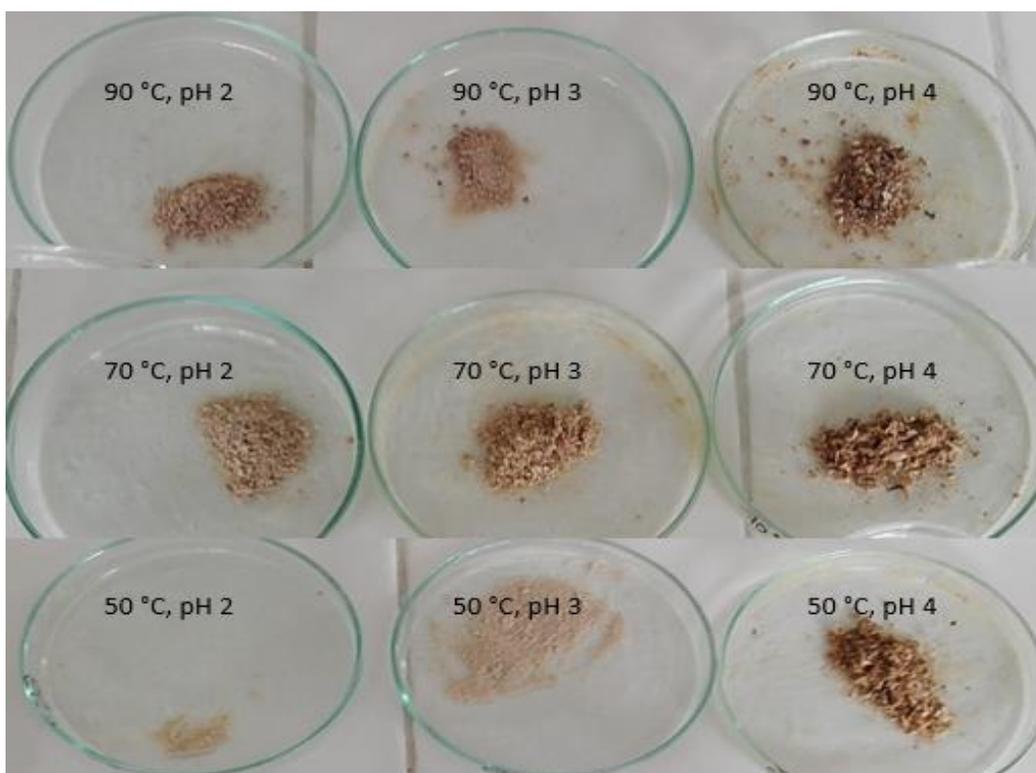


Figura 2. Pectina de cascara de cacao extraída bajo nueve tratamientos.

Durante el proceso de extracción de la pectina, es importante resaltar que en los resultados experimentales hubo una mayor proporción de sólidos en suspensión a temperaturas altas de trabajo, 70°C y 90°C respectivamente como se observa en la figura 3. Zapata *et al.*, (2009) señala que valores de pH por debajo de 6,0 en presencia de EDTA pueden degradar el tejido de las plantas. En base ello, la cantidad considerable de sólidos en suspensión puede ser atribuida al uso de EDTA y al intervalo de temperatura aplicado. Se ha reportado el uso de la centrifugación para separar sólidos en suspensión en la extracción en medio ácido de pectinas es la mejor forma para obtener pectinas con mayor pureza (Silva, Benites, & Gomero, 2008).

Por otro lado, al momento de agregar el alcohol etílico acidificado ocurrió la precipitación y separación de las sustancias pécticas, las cuales flotaron hacia la superficie de la mezcla en forma de una sustancia cristalina (figura 3). El precipitado blanco gelatinoso descrito por Bazarte, (2006) fue más evidente después de la centrifugación, aunque luego se tornó de color pardo durante el secado. Cabe destacar que por las características de las sustancias pécticas extraídas, el único proceso de separación efectivo en el laboratorio lo representa la centrifugación.

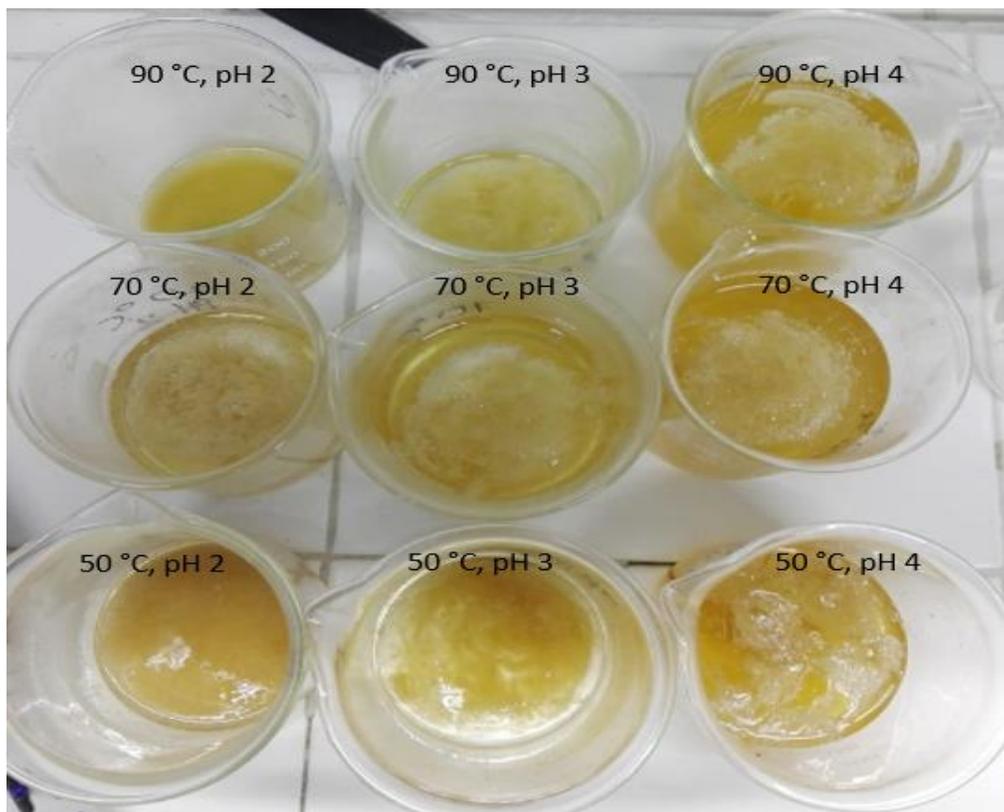


Figura 3. Precipitación y separación de sustancias pécticas.

Previo al secado se realizó un lavado con acetona para mejorar su pureza, color y facilitar su secado (Molina, 2016), ya que se logró formar un precipitado más consistente, pero la presencia de enormes cantidades de acetona en la pasta final origina que el extracto tenga características gelatinosas, con propiedades adherentes, lo cual representa un problema a la hora de separar la muestra seca de la cápsula de vidrio (Betancourt, 2009).

Tabla 5. Porcentaje de extracción, contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas de cascara de cacao.

| tratamiento | pH | Temperatura (°C) | Extracción (%) | Metoxilo (g/100g) | Grado de Esterificación (%) | Peso equivalente (g/equivalenteH ⁺) |
|-------------|----|------------------|----------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------|
| 1 | 2 | 50 | 2,67±0,00 | 0,45±0,090 ^a | 16,035±1,336 ^a | 133,33±0,000 ^a |
| 2 | 2 | 70 | 5,94±0,00 | 5,92±0,091 ^b | 5,10±1,442 ^b | 127,66±0,000 ^b |
| 3 | 2 | 90 | 3,16±0,00 | 0,00±0,00 ^c | 31,15±1,025 ^c | 125±0,000 ^c |
| 4 | 3 | 50 | 3,55±0,00 | 2,13±0,091 ^d | 0,00±0,000 ^d | 120±0,000 ^d |
| 5 | 3 | 70 | 6,70±0,00 | 3,03±0,091 ^e | 37,22±0,650 ^e | 137,94±2,24 ^e |
| 6 | 3 | 90 | 2,55±0,00 | 16,53±0,182 ^f | 10,78±1,386 ^f | 130,43±0,000 ^f |
| 7 | 4 | 50 | 11,26±0,00 | 1,48±0,091 ^g | 0,00±0,000 ^d | 146,34±0,000 ^g |
| 8 | 4 | 70 | 7,70±0,00 | 0,00±0,00 ^c | 19,59±1,746 ^g | 150±0,000 ^h |
| 9 | 4 | 90 | 5,41±0,00 | 0,00±0,00 ^c | 23,69±1,188 ^h | 148,15±0,000 ⁱ |
| P-valor | | | | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

p-valor ≤ 0,05 existen diferencias significativas, letras iguales en columnas no existen diferencias mínimas significativas

El rendimiento del proceso de extracción de pectinas de cascara de cacao, se expresó como la relación entre el peso de la pectina seca con respecto a la muestra de harina deshidratada. De acuerdo a los resultados obtenidos los tratamientos 1, 3, 4 y 6 presentaron menor rendimiento, este oscilo entre 2,55% a 3,55%, los tratamientos 2, 5, 8, 9, obtuvieron un mayor rendimiento del 5,41% al 7,70% que el anterior, solo el tratamiento 7 (50°C y pH 4) logro un porcentaje de extracción del 11,26% el más elevado. Bazarte, (2006) determinó que la cascara de cacao posee un rendimiento comprendido entre 2,64% para muestras tratadas a un (pH = 3,0; Temperatura "T" = 60 °C) y 4,69% para muestras tratadas a un (pH = 5,0; T = 90 °C). El mayor rendimiento se dio a pH 4 y puede deberse al menor grado de desintegración del tejido y de la pectina, ya que es conocido que en presencia de EDTA los tejidos se desintegran a pH por debajo de 6, además, valores bajos de pH pueden causar depolimerización de las pectinas, igualmente se evidencio que la temperatura fue dependiente del pH y el tiempo de extracción ya que se reportó un incremento en la producción de pectinas de la cascara de cacao con el incremento de la temperatura de extracción a 70°C (Joslyn, 1963).

El rendimiento en la extracción de pectina, viene dado de acuerdo al tipo de secuestrante, para este caso el EDTA ya que, se utiliza como medio de extracción con el objeto de inducir un posible efecto sinergista en conjunto con el pH y la temperatura, dado que tienen la propiedad de poder asociarse a los iones calcio y el hexametáfosfato de sodio, debido a la variación en el grado de metoxilación, es decir, presenta una proporción pequeña de grupos carboxilo esterificados formando sales insolubles con los iones calcio existentes, de modo que, en presencia de secuestradores de calcio son solubles, lo cual es importante puesto que facilitan la extracción y evitan efectos indeseados en las propiedades de las pectinas (Addosio *et al.*, 2008). Sin embargo no se observó un incremento en el rendimiento en relación a los resultados obtenidos por Bazarte, (2006) donde enuncia que la utilización de este secuestrante indicó un aumento en la extracción de pectina en cascara de cacao superior al 12%, cabe señalar que una baja concentración del agente sinergista origina un menor rendimiento de extracción, por lo tanto es necesario de controlar factores de proceso como relación agua: materia sólida, tiempo, temperatura y pH para obtener grandes eficiencias en la extracción de pectinas comerciales.

Vriesmann *et al.*, (2012) extrajeron pectinas a partir de cáscaras frescas de cacao, a diferencia del estudio presente donde la muestra fue deshidratada. Joslyn, (1963), sostiene que el secado por encima de 20°C reduce la extracción de la pectina señalan que durante el secado de las cáscaras de cacao se altera la naturaleza de la protopectina traduciéndose en la reducción de la producción y del potencial poder gelificante del aislado de pectina. Por este motivo, el proceso de secado aplicado a la materia prima en el estudio presente pudo ocasionar disminución en el rendimiento de extracción. Aunque su rendimiento es extracción es bajo, el uso de la cáscara de cacao como materia prima de pectina puede justificarse en la enorme cantidad de desechos que se generan de la explotación cacaotera más que en su rendimiento (Bazarte, 2006).

Por consiguiente, se evaluó el contenido de metoxilo de la cascara de cacao y el efecto de la interacción entre los factores pH y temperatura en las muestras, estadísticamente se identificó que existen diferencias significativas, de acuerdo a esto se puede afirmar que estas variables inciden en el contenido de metoxilo del producto final.

Este contenido presentó variabilidad con respecto a los resultados, puesto que la mayoría de las muestras presentaron un contenido de 0,00 a 5,92 (g/100g), exceptuando el tratamiento 6 (90°C, pH 3), donde se evidenció un valor de 16,53 (g/100g), lo que indica que predominó pectinas de bajo metoxilo las cuales se caracterizan por un grado de metilación menor a 7,0 (g/100g) (Bazarte, 2006). Esta divergencia puede ser causada por el proceso de extracción aplicado, aunque el contenido de AGA también puede influir, ya que para la determinación del contenido

de metoxilo se considera el peso total de la muestra. Como se sabe, el contenido de metoxilo es útil para predecir las propiedades de las pectinas y suponer posibles usos, de allí que las pectinas extraídas de cáscaras de cacao podrían tener capacidad de formar geles en presencia de iones de calcio. Sin embargo es necesario un estudio del poder gelificante, ya que existen otros factores que inciden considerablemente en la gelificación de las pectinas (Vriesmann *et al.*, 2012). En estudios realizados sobre el contenido de metoxilo de posibles fuentes convencionales, Mendoza *et al.*, (2017), determinaron que las cáscaras de cacao extraídas enzimáticamente presentan un contenido de 1,58 (g/100g). Guzmán *et al.*, (2015), indican que la pectina obtenida de la cascarilla de cacao tiene una variación de 2,65 y 2,90 (g/100g) para las variedades criollo y forastero, igualmente Suarez y Orozco, (2014) confirmaron que la cascarilla de cacao presenta un contenido de metoxilo de 2,70 a 2,90 (g/100g).

Las pectinas que poseen un bajo contenido de metoxilo pueden ser usados para la formación de geles con bajo o alto contenido de sólidos solubles. Para la formación de estos geles es necesario la presencia de iones de calcio. Este tipo de pectina se encuentra fuertemente influenciadas por la temperatura, para que se produzca la gelificación es necesario que se encuentren en el rango de 35 a 65 °C (Vela, 1997), su capacidad de formación de geles se debe a la configuración específica obtenida por los grupos carboxilo en una pectina normalmente esterificada, siempre que la longitud de la molécula sea suficiente se puede obtener la gelificación con cantidades de calcio inferiores al 0,1% a un en ausencia total de azúcar o ácido. Los geles de estas pectinas son elásticas y su rigidez disminuye con el aumento de temperatura, la viscosidad aumenta al bajar el pH precipitándose como coágulos (Silva *et al.*, 2008).

Vela (1997), enuncia que entre contenido de metoxilo y el grado de esterificación no existe relación, afirma que el poder gelificante depende del grado de polimerización del ácido galacturónico.

En la tabla 5 se evidencia los resultados sobre el grado de esterificación de las pectinas de cáscaras de cacao analizadas, en él se detalla que el valor de *p* para los factores pH y temperatura y para la interacción pH–temperatura fue menor a 0,05, lo que es indicativo de que existe un efecto estadísticamente significativo tanto de los dos factores bajo estudio como de la interacción sobre el grado de esterificación de las pectinas extraídas de cáscaras de cacao bajo 9 tratamientos distintos.

En los resultados de la determinación del grado de esterificación se obtuvo un porcentaje menor al 50%, lo que indica que al igual que en el caso del contenido de metoxilo, permite clasificar las pectinas como de bajo metoxilo, el tratamiento 5 (70°C, pH 3) presentó un porcentaje de 37,22, concordando con el cual obtuvo

pectinas de la cascara de cacao con un grado de esterificación comprendido entre 37,49%, Suarez y Orozco, (2014), reportaron un grado de esterificación entre 60,0 y 76,3% en pectinas de cáscaras de cacao, pudiendo atribuirse al proceso de extracción desarrollado, Barazarte *et al.*, (2008) determinó 61,8% de grado de esterificación en el endocarpio de cacao y 68,0% para el exudado de cacao, Vela, (1997) hallaron grados de esterificación entre 45 y 69% en el mucílago del cacao tipo Criollo y 60 y 72% para el mucílago del cacao tipo Forastero.

Si bien, un 100% de grado de esterificación corresponde teóricamente a 16,32 g/100g de contenido de metoxilo, según la metodología empleada para la determinación de estos dos parámetros, se deduce que esta relación es dependiente de la pureza de la pectina (Vela, 1997). El contenido de metoxilo representa el peso de los grupos metilos de la molécula de ácido poligalacturónico en relación al peso de la muestra, mientras que el grado de esterificación indica la proporción de grupos carboxilos esterificados con respecto al número total de grupos carboxilos presentes en la molécula de pectina. De allí se tiene, que el contenido de metoxilo disminuye a medida que disminuye el contenido de AGA, mientras que el grado de esterificación no se ve afectado (Rascón *et al.*, 2016). De acuerdo a los resultados obtenidos se observa una buena relación entre el contenido de metoxilo y el grado de esterificación, atribuida el hecho de un contenido de AGA mucho mayor, aunque existe disparidad entre algunos tratamientos como 3 (90 °C, pH 2), donde se evidencia que posee un grado de esterificación de 31,15%, pero su contenido de metoxilo es 0,00 (g/100g), todo ello depende de los factores pH y temperatura, puesto que a través de ácidos y álcalis se logra la desmetoxilación de sustancias pécticas y es por ello que el pH de extracción puede afectar considerablemente el grado de esterificación de las pectina provocando reacciones de deesterificación (Bazarte, 2006). Adicionalmente, el suministro de energía a través de la temperatura causa rompimiento de los enlaces ester y con ello la eliminación de grupos metilos. Ello se explica el efecto considerable del pH y la temperatura y de la interacción pH - temperatura sobre el contenido de metoxilo y grado de esterificación de las pectinas extraídas de cáscaras de cacao (Barazarte *et al.*, 2008).

Los resultados obtenidos para pesos equivalentes en la tabla 5, evidencia que su contenido es mínimo, en todos los tratamientos debido a la interacción pH-temperatura, igualmente en análisis estadístico ANOVA se determinó que el p-valor es menor a (0,05), lo que indica efecto significativo para estas variables. De esta situación se puede afirmar que el peso equivalente de las pectinas extraídas de cáscaras de cacao es afectado considerablemente por la combinación pH-temperatura.

El pH es el factor que mayor afecta al peso equivalente (PE), debido a que al aumentar este, se presenta un contenido mayor para el PE, identificándose que

para la temperatura de 50°C el pH 2 muestra un valor para de PE de 133,33 (g/equivalenteH⁺), el pH 3 de 120 (g/equivalenteH⁺) y pH 4 de 146,34 (g/equivalenteH⁺), para la temperatura de 70°C se observa esta misma relación, identificándose que para el pH de 2, esta posee un valor de 127,66 (g/equivalenteH⁺), pH 3 un valor de 137,94 (g/equivalenteH⁺) y pH 4 de 150 (g/equivalenteH⁺), igualmente para la temperatura de 90°C se presenta esta relación siendo directamente proporcional el aumento del peso equivalente en correlación al pH. El peso equivalente corresponde al número de unidades de ácido urónico anhidro y grado de esterificación, que se encontró en la pectina extraída identificando valores por mayores de los resultados obtenidos para las pectinas comerciales evaluadas, lo que podría indicar presencia de residuos de cáscara de cacao, azúcares o sustancias polifenólicas, causado, probablemente, por la actividad xilanasa, celulasa y hemicelulasa del complejo enzimático, (Bazarte, 2006).

Bazarte, (2006), determino que el peso equivalente de las pectinas de cascara de cacao, presentan un valor de 385,59 (g/equivalenteH⁺), también enuncian que el PE es afectado considerablemente por la temperatura y la combinación pH temperatura, mientras que la variación entre los niveles de pH no produce ningún cambio importante. (Vela, 1997) obtuvo pectinas del exudado del cacao con valores para peso equivalente de 496,90 (g/equivalenteH⁺), debido a los residuos contenidos, especialmente azúcares y sustancias polifenólicas, en su investigación identifica que el peso equivalente es dependiente del grado de esterificación y que una pectina de alto metoxilo tiene en promedio un peso equivalente de 1000 (g/equivalenteH⁺), por lo tanto el peso equivalente encontrado en la pectina de la cascara de cacao también lo caracteriza como pectina de bajo metoxilo.

El peso equivalente está relacionado con el grado de esterificación y el contenido de metoxilo, donde valores de pesos equivalentes altos pueden concordar con pectinas de carácter menos ácidas, necesiándose cantidades altas de la muestra para producir un mol de H⁺, es decir que poseen valores altos de contenido de metoxilo y/o grado de esterificación. Valores bajos de pesos equivalentes indican que se requieren menores cantidades de producto para producir un mol de H⁺, por lo tanto poseen un carácter más ácido, de allí que corresponde a valores más bajos de contenido de metoxilo y grado esterificación (Bazarte, 2006).

5.2 ESTUDIO DEL EFECTO EN LOS COMPONENTES DE LAS PELICULAS COMESTIBLES EN LAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

5.2.1 Variación relación peso volumen de la pectina y componentes de la solución filmogénica

Para la elaboración de películas comestibles a base de pectina extraída de los subproductos del cacao, se realizaron diferentes concentraciones de las soluciones pécticas, para determinar cuál es la que puede generar un mejor film, estableciendo que a mayor concentración de la pectina se genera un aumento en el color de la solución obtenida como se observa en la figura 4.

La aplicación del surfactante y plastificante ocasiono un cambio en el color de la solución, identificándose que al adicionar el surfactante Tween 20 y el plastificante glicerol, produjo mayor opacidad en las tres soluciones, siendo mayormente perceptible en la muestra que posee mayor contenido de pectina puesto que se encuentra dada su adición en base seca de acuerdo a la concentración de solución péctica utilizada. Domínguez y Jiménez, (2012) enuncian que la aplicación de surfactantes mejora la resistencia al vapor de agua de las películas formuladas con polisacáridos; sin embargo, las aplicaciones se ven limitadas, debido a que se incrementa la opacidad de las películas resultantes. Por ejemplo, la opacidad de películas formuladas con metilcelulosa, glucomanan y pectina en proporción 1/4/1, presentaron un aumento en opacidad del 3% al adicionar el surfactante debido a un efecto sinérgico entre componentes.

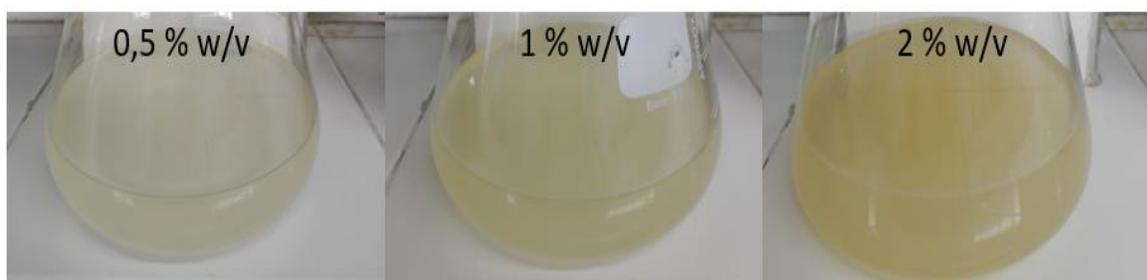


Figura 4. Efecto en la variación de relación peso/volumen de la pectina.

La formación y secado de las películas comestibles se realizó por medio de coagulación térmica la cual es especial para matrices de hidrocoloides, pues se produce un calentamiento de la solución, lo cual da lugar a una estructura tridimensional o estado gel y posteriormente el solvente se elimina por evaporación. (Guzmán *et al.*, 2015). Este tipo de secado permite formar una microestructura con uniones covalentes entre las partículas duras dando origen a una red más compacta (Deiber, 2013).

Como se observa 5, las películas comestibles obtenidas presentaron excelentes características, debido a que, el método utilizado coagulación térmica produce una unión covalente de partículas donde, la estructura tiene una compactación más efectiva físicamente (Deiber, 2013).

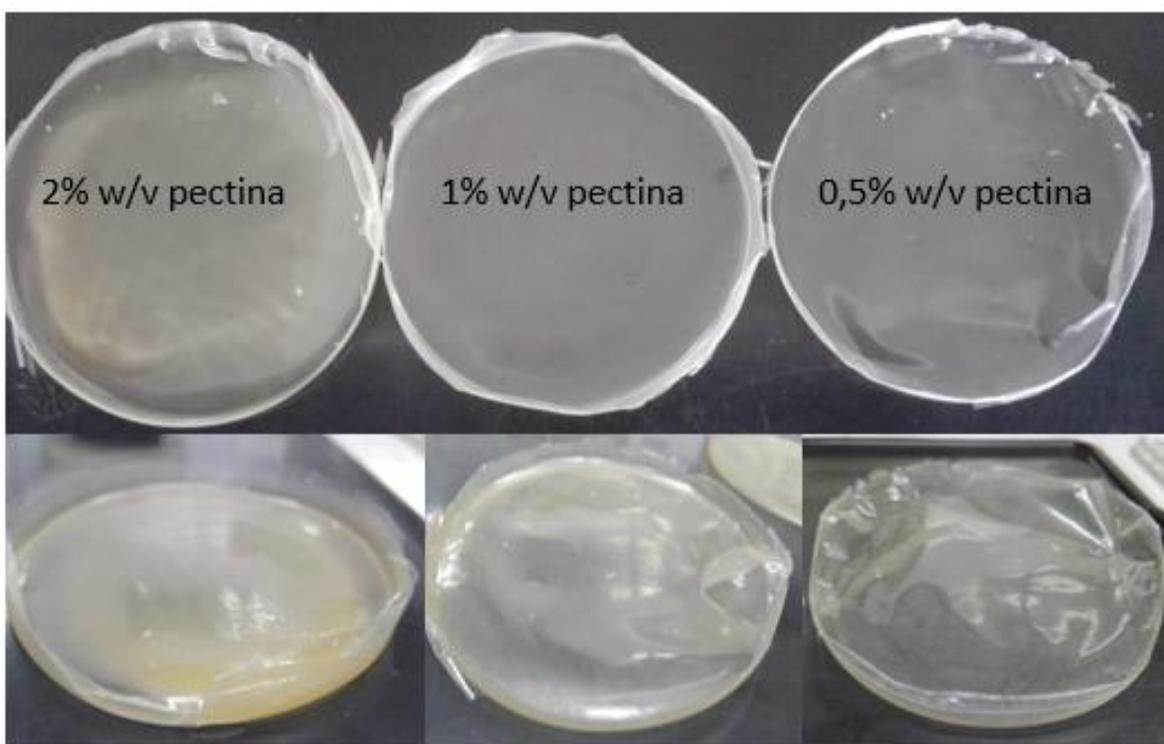


Figura 5. Formación y secado de las películas comestibles a diferentes concentraciones de pectina.

De acuerdo a las tres concentraciones utilizadas de pectina de la cascara de cacao se observa que para el tratamiento a 0,5% w/v de pectina presenta características menos compactas, pero más plásticas y de fácil manejo, igualmente la muestra con 1% w/v de pectina, es flexible, aunque presenta mayor compactación que la anterior, por lo tanto, es rígida y con mayor resistencia. La muestra formada con el 2% w/v de pectina son duras en relación con las muestras anteriores, como se observa en la figura 5, es compacta y con mayor opacidad, puesto que presenta una coloración crema-amarillo en su base debido a la concentración de la solución en esta zona durante el secado.

Los films resultantes de las dispersiones son translucidos y de aspecto homogéneo, lo cual indica que no han ocurrido procesos de retrogradación, que implican películas más frágiles. Sus superficies son suaves, lisas y no presentan poros o roturas apreciables.

5.2.2 Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles

Entre las propiedades físicas y químicas más importantes para las películas comestibles se encuentra el espesor, la permeabilidad al vapor de agua y contenido de humedad del film.

Los plastificantes, son los principales componentes que afectan a las propiedades de barrera y mecánicas de los hidrocoloides. Los plastificantes interfieren en las uniones entre las cadenas de polímero reduciendo así su cohesión. Estos aumentan la movilidad entre las cadenas de polímero y, por tanto, la flexibilidad y elasticidad del mismo, aumentando el volumen libre y la permeabilidad de los films (Tarazaga, 2007).

El espesor de los films obtenidos incremento a medida que se concentró el contenido de pectina en los tratamientos, para el ensayo con 0,5% w/v de pectina se obtuvo un espesor de 0,1050 mm, para el 1% w/v pectina se evidencio un aumento significativo hasta 0,2017 mm, duplicando su espesor, para el ultimo tratamiento a el 2 % w/v pectina presento un valor de 0,2417, identificándose que son polietilenos de alta densidad translucidos, (Zuloaga, 2017), enuncia que estos polímeros tienen un espesor de 0,10 mm hasta 0,5 mm.

Las propiedades barrera de las películas varían con el espesor de las mismas, ya que el espesor determina la distancia que el permeato (vapor de agua y gases) debe recorrer para difundir de un lado a otro de la película (Tarazaga, 2007). los films obtenidos presentan una transmisión al vapor de agua baja, al igual que la permeabilidad al vapor de agua, como se observa en la tabla 6. Se ha encontrado una relación dependiente positiva entre la permeabilidad al vapor del agua y el espesor de las películas. Se considera que a medida que el espesor aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través del film, por lo que la presión parcial de vapor del agua de equilibrio en la superficie inferior de la cubierta se incrementa (Rivera, 2016).

La permeabilidad al vapor de agua se define como la tasa de transmisión de vapor de agua a través de una unidad de área de material plano con espesor inducido por una diferencia de presión de vapor entre dos superficies específicas, bajo condiciones de humedad y temperatura definidas (Miramont, 2012). La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es una de las propiedades más importantes en el desempeño como barrera de las películas biopoliméricas. Indica la capacidad de las películas para el control del transporte de vapor de agua entre un sistema alimenticio y sus alrededores. (Rivera, 2016). En la tabla 6, se evidencia la permeabilidad al vapor de agua (WVP), identificándose que a mayor espesor del film, menor es la permeabilidad, puesto que para el tratamiento 0,5% w/v pectina se

presenta una WVP de $43,367 \times 10^{-6}$ ($\text{g} \cdot \text{mm} / \text{Pa} \cdot \text{m}^2$) y una transmisión de vapor de agua de $9,7874 \times 10^{-8}$ $\text{g} / \text{h} \cdot \text{m}^2$, para el tratamiento 2 con concentración 1 % w/v pectina posee una WPV de $21,146 \times 10^{-6}$ ($\text{g} \cdot \text{mm} / \text{Pa} \cdot \text{m}^2$) y una transmisión de vapor de $9,7874 \times 10^{-8}$ $\text{g} / \text{h} \cdot \text{m}^2$, para el ultimo tratamiento a 2% w/v de pectina las muestras presentaron una permeabilidad de $6,8097 \times 10^{-6}$ ($\text{g} \cdot \text{mm} / \text{Pa} \cdot \text{m}^2$) y una transmisión de vapor de agua de $1,3808 \times 10^{-8}$ $\text{g} / \text{h} \cdot \text{m}^2$. Este efecto se debe principalmente a la concentración de pectina ya que el plastificante y el surfactante estuvieron presente en la misma proporción, aunque la presencia de glicerol, generan matrices poliméricas más compactas, pero con espacios libres de polímero o poros de la película de menor tamaño o en menor proporción que hacen más permeable al vapor de agua el film (Miramont, 2012).

Tabla 6. Propiedades físicas y químicas de las películas comestibles a diferentes concentraciones de pectina.

| | Espesor (mm) | %humedad | WPT (Transmisión vapor de agua) ($\text{g} / \text{h} \cdot \text{m}^2$) $\times 10^{-8}$ | WVP (Permeabilidad vapor de agua) ($\text{g} \cdot \text{mm} / \text{Pa} \cdot \text{m}^2$) $\times 10^{-6}$ |
|------------------|------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0,5% w/v pectina | $0,1050 \pm 0,10517^a$ | $21,98 \pm 0,2683^a$ | 9,7874 | 43,367 |
| 1 % w/v pectina | $0,2017 \pm 0,00983^b$ | $21,93 \pm 0,1917^b$ | 4,2079 | 21,146 |
| 2 % w/v pectina | $0,2417 \pm 0,06018^c$ | $21,53 \pm 0,1054^a$ | 1,3808 | 6,8097 |
| p-valor | 0,000 | 0,000 | | |

p-valor $\leq 0,05$ existen diferencias significativas, letras iguales en columnas no existen diferencias mínimas significativas

Al comparar las formulaciones se identificó que la concentración de pectina afecta las propiedades físicas y químicas de los films, donde a mayor concentración mayor, mayor es el espesor y menor es la transmisión de vapor de agua y la permeabilidad de vapor de agua, caso aparte se observa para el contenido de humedad de las películas, donde a las concentraciones de 0,5%, 1% y 2% presentan un porcentaje de humedad de 21,98%, 21,93 y 21,53% respectivamente, debido a la afinidad del plastificante por el agua, la cual determina su capacidad para atraer agua al sistema, donde, a su vez, contribuye a la plastificación del mismo y afecta la permeabilidad de las películas. Así, la mayor higroscopicidad del plastificante potencia la capacidad del plastificante para mejorar las propiedades mecánicas de las películas, pero reduce la barrera al vapor de agua. El estado físico de los plastificantes también modifica su efectividad. observaron que el glicerol, gracias a su estado líquido, plastifican mejor las películas.

5.3 DEFINICIÓN DE LA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE LA PECTINA DE LA CASCARA DEL CACAO.

Para la definición de la película comestible se realizó principalmente una determinación del contenido de pectina de los subproductos de cacao, identificándose que la cascara es la que mayor contenido de sustancias pécticas posee, de acuerdo a la relación de AGA (ácido anhidrogálaturónico) como se observa en la tabla 4, en los dos métodos de evaluación agua y EDTA se identificó mayor presencia de estas sustancias. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se planteó la extracción de la pectina bajo nueve tratamientos en los cuales se tomaron como variables la temperatura (50, 70 y 90 °C) y pH de hidrólisis (2, 3 y 4), obteniéndose que el mejor tratamiento fue el de temperatura de 70°C y pH de 3, puesto que el grado de esterificación y metoxilo, identifican la pectina como de bajo metoxilo con características ideales para la formación de films debido a su capacidad de formación de geles obtenida por los grupos carboxilo de una pectina esterificada, dado que la longitud de la molécula puede obtener la gelificación con cantidades de calcio inferiores al 0,1% a un en ausencia total de azúcar o ácido. Los geles de estas pectinas son elásticas y su rigidez disminuye con el aumento de temperatura, la viscosidad aumenta al bajar el pH precipitándose como coágulos (Silva *et al.*, 2008).

Determinando la pectina extraída con mejores características se procedió a formar y secar las soluciones de los films, con diferente concentración de pectina, 0,5%, 1% y 2%, adicionando 20% en base seca del surfactante y plastificante, obteniendo películas, traslucidas para las formulaciones 0,5% y 1%, de aspecto homogéneo, suaves, lisas y no presentan poros o roturas apreciables en los tres casos.

La pectina presenta la característica de formar films íntegros, pero el plastificante y el surfactante en concentración adecuada, otorga flexibilidad, haciéndola más manejable y evitando resquebrajamientos, la aplicación del 20% de estos reactivos resulta adecuado, dado que a mayores concentraciones, dan como resultado films pegajosos, lo cual dificulta su manejo ya que no se separa de las placas Petri en la cual han sido elaborados, concentraciones menores provocan un film débil, de fácil rotura.

La desaireación ha de llevarse a cabo inmediatamente tras la formación de la solución, con la activación de las sustancias pécticas, para evitar el descenso de temperatura de la mezcla, lo cual implica un aumento de la viscosidad y la consecuente dificultad para eliminar las burbujas de aire.

Referente al secado, a la condición de 60°C resulta adecuada, eliminando el solvente en un periodo de dieciséis horas. Al sacar las placas Petri de la cámara climática, donde se ha llevado a cabo el proceso anterior, se han de introducir en

una campana, para que los films absorban algo de humedad, plastificándose y facilitando su despegue de dichas placas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis ANOVA para el espesor, permeabilidad y transferencia al vapor de agua se definió que la mejor película es la que posee una concentración del 2%, debido que a medida que el espesor aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través del film (Rivera, 2016). Como se observa en la tabla 6, donde el film formado por esta concentración, posee un espesor mayor, una menor a la permeabilidad y transferencia al vapor de agua con respecto a las demás muestras, igualmente sus características son ideales aspecto como su homogéneo, suaves, lisas y no presentan poros o rotura, su translucidez es menor debido a la coloración de la pectina de la cascara del cacao.

6. CONCLUSIONES

- De los tres componentes estudiados, la cáscara del cacao representa la mayor parte del fruto, siendo este un subproducto que se desecha y no es utilizado en la industria. Sus características de entre los componentes del cacao permiten valorarlo como material base para la elaboración de films comestibles, por su contenido de pectina y su facilidad en manejo y acondicionamiento, ya que requiere menor tiempo de secado (16 h), obteniendo un rendimiento del 11,42%.
- La cáscara de cacao presenta un contenido de ácido anhidrogalacturónico bajo en comparación con las fuentes comerciales de pectinas, sin embargo, puede ser de interés para su uso industrial, basado en que anualmente en Colombia se genera 55 toneladas las cuales son material de desecho.
- Los niveles de pH y temperatura de extracción utilizados influyeron significativamente en las características físicas y químicas de las pectinas de cáscaras de cacao. La pectina de mejor calidad se extrajo a pH 3 y a temperatura de 70°C, lográndose obtener un film con excelentes características estructurales, físicas y químicas.
- A partir de la cáscara de cacao se obtuvieron pectinas de bajo metoxilo capaces de formar soluciones viscosas, ideales para la formación de películas comestibles debido a su capacidad de gelificar en medios carentes de sacarosa y ácido.
- La aplicación del 20% de surfactante y plastificante ocasiona un cambio en el color de la dispersión del film, identificándose que produce mayor opacidad en la muestra que posee mayor contenido de pectina.
- Conforme se aumenta la concentración de pectina obtenida de la cascara del cacao el film presenta características más compactas, más plásticas y de menor maleabilidad y mayor resistencia.
- De acuerdo con los espesores y la permeabilidad de agua, los films obtenidos son considerados polietilenos de alta densidad translucidos, ya que con la

formulación empleada de sus componentes mejoran ésta característica siendo los obtenidos a base de pectina de cascara de cacao más traslúcidos, que los considerados en este grupo.

- En la formación de un film comestible a base de pectina obtenida de cáscara del cacao CCN51, se requiere un secado de este a 60°C por un tiempo de 16 horas, adicionar el secuestrante EDTA al 0,5% y ajustar el pH a 3,0 con el fin de hidrolizar la pectina a una temperatura de 70°C durante 90 minutos. Posteriormente se filtra, se adiciona alcohol al 95%, se centrifuga, se purifica y se seca a 40°C. La pectina obtenida se solubiliza al 2%, se adiciona el surfactante Tween 20 y el plastificante glicerol al 20% en base seca. Se realiza la desgasificación, se sirve 50 g de la mezcla en cajas Petri y se dispone al secado a 60°C por 16 horas.
- El film obtenido con el 2% de pectina a base de cascara de cacao se caracteriza por presentar una permeabilidad de $6,8097 \times 10^{-6}$ (g*mm/Pa*m²) y una transmisión de vapor de agua de $1,3808 \times 10^{-8}$ g/h*m².
- Los films obtenidos presentan buenas características con respecto al espesor, permeabilidad y transferencia al vapor de agua, puesto que son bajos y pueden llegar a conservar un alimento.

7. RECOMENDACIONES

- Determinar el contenido de polifenoles de la pectina extraída
- Evaluar el efecto de factores como la relación agua – materia sólida, tiempo y concentración de EDTA en el proceso de extracción de pectinas de cáscara de cacao
- Determinar la propiedad barrera contra el oxígeno, en este tipo de materiales, ya que este gas está involucrado en muchas reacciones de degradación en alimentos.
- Realizar el ensayo de las propiedades mecánicas sobre los films obtenidos para determinar su resistencia a la ruptura y deformación.
- Evaluar la aplicabilidad de la película comestible sobre un alimento fresco.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACHIPIZ, S. M., CASTILLO, A. E., MOSQUERA, S. A., HOYOS, J. L., NAVIA, D. P. (2013). efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*psidium guajava*). *Bioteología En El Sector Agropecuario Y Agroindustria*, 2(2), 92–101.

ALANIZ, Z. E., ARVIZÚ. A. S., GONZÁLEZ, U. K. (2012). “Producción de postres y vinagres a partir de exudado de cacao en la cooperativa de servicios múltiples “Ríos de agua viva, 21 de Junio, municipio Rancho Grande Matagalpa.” Universidad nacional de ingeniería. Retrieved from <http://ribuni.uni.edu.ni/366/1/Agro5.pdf>

ARANCIBIA, M. (2014). Recubrimientos activos procedentes de recursos infrautilizados y residuos de la industria para su aplicación en agroalimentación, 394. Retrieved from <http://eprints.ucm.es/30017/1/T36045.pdf>

ÁVILA, S. R., LÓPEZ, M. A. (2008). Aplicacion De Sustancias a Recubrimientos Comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 2, 2, 4–13. Retrieved from <https://tsia.udlap.mx/aplicacion-de-sustancia-a-peliculas-y-recubrimientos-comestibles/>

BARAZARTE, H., SANGRONIS, E., UNAI, E. (2008). La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): Una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(1), 64–70. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222008000100009

BARRETO, G. E., PÚA, A. L., ALBA, D. D., PIÓN, M. M. (2017). Extracción y caracterización de pectina de mango de azúcar (*Mangifera indica* L .) *Temas Agrarios*, 22:(1), 77–84. Retrieved from <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/918>

BAZARTE, H. E. (2006). Uso Potencial De La Cáscara De Cacao Como Fuente De Pectina. Retrieved from <http://159.90.80.55/tesis/000143772.pdf>

BETANCOURT, L. D. (2009). Extracción de pectinas a partir de los subproductos del beneficio del cacao. *Methods in carbohydrate chemistry*. Universidad EAFIT. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/47237189.pdf>

CABARCAS, E. H., GUERRA, A. F., CESAR, H. B. (2012). Extracción y caracterización de pectina a partir de cáscaras de plátano para desarrollar un

diseño general del proceso de producción. Universidad de cartagena.

CARRION, J. (2012). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51, Jama-Manabí, 15–45.
<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1451/1/104270.pdf>.

D'ADDOSIO, R., PÁEZ, G., MARÍN, M., MÁRMOL, Z., FERRER, J., BADUI DERGAL, S., GARY, C. (2008). Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(3), 728–733.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.024>

DEIBER, M. L. (2013). Caracterización mecánica de películas colagénicas comestibles generadas por coagulación, uniones covalentes y tratamiento térmico. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química, INTEC (UNL- CONICET).

DOMÍNGUEZ, M., JIMÉNEZ, M. (2012). Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2, 110–121.

DU, W. X., OLSEN, C. W., AVENA, R. J., MCHUGH, T. H., LEVIN, C. E., FRIEDMAN, M. (2009). Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *Journal of Food Science*, 74(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01282.x>

FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS. (2012). caracterización fisicoquímica del grano de cacao (*theobroma cacao* l.) en colombia. federación nacional de cacaoteros, fedecacao. Retrieved from https://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_09B.pdf

GONZÁLEZ, L. R. (2011). Desarrollo y evaluación de una película comestible obtenida del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) utilizada para reducir la tasa de respiración de nopal verdura. *Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos*, 3, 131–138.

GUERRERO, G. E., SUÁREZ, D. L., OROZCO, D. M. (2017). Implementación de un método de extracción de pectina obtenida del subproducto agroindustrial cascarilla de cacao Implementation of a method of extraction conditions of pectin obtained from agroindustrial by-product cocoa husks. Retrieved from <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/viewFile/919/1>

167

GUZMÁN, L. E., ACEVEDO, D., ROMERO, L., ESTRADA, J. (2015). Elaboración de una Película Comestible a Base de Colágeno Incorporado con Nisina como Agente Antimicrobiano. *Información Tecnológica*, 26(3), 17–24. <https://doi.org/10.4067/S0718-0764201500030000425>.

HERNANDEZ, A, S., CALDERON, S. D. (2006). Obtención de una cobertura de chocolate a partir de cacao silvestres, copoazú (*theobroma grandiflorum*), y maraco (*theobroma bicolor*), de la amazonia colombiana. Universidad de La Salle Retrieved from <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/15720/T43.06%20H43o.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

JOSLYN, M. A. (1963). The Chemistry of Protopectin: A Critical Review of Historical Data and Recent Developments. *Advances in Food Research*, 11, 1–107. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60064-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60064-6)

LUZURIAGA, D. (2012). Extracción y aprovechamiento del mucílago de cacao como materia prima en la elaboración de vino. Universidad Tecnológica Equinoccial. Retrieved from http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/4930/1/47745_1.pdf

MÁRQUEZ, T., ANDREA, M., ADELA, L. V. (2015). Propiedades físicas, mecánicas y de barrera de películas comestibles a base de mucílago de nopal como alternativa para la aplicación en frutos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16 (2), 193–198. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/813/81343176007.pdf>

MADRID, O. L. (2017). Efecto de diferentes humedades relativas y tipos de plastificantes en el proceso de secado de capsulas blandas de gelatina, 172. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/56565/>

MARZO, I. (2010). Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína. Universidad pública de navarra. Retrieved from <https://academica-e.unavarra.es/xmlui/handle/2454/2203>

MENDEZ, M. A. (2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. *Ciencias Marinas*, 49 Suppl 1, 104. <https://doi.org/Tesis de Ingenieria Civil>

MENDOZA V, L., JIMÉNEZ F, J., RAMÍREZ N, M. (2017). Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao

(Theobroma cacao L.). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 20, 20(1), 131–138. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/bibliotecavirtual.udla.edu.ec/pdf/rudca/v20n1/v20n1a15.pdf>

MIRAMONT, S. (2012). Recubrimientos Elaborados a Partir De Biopolímeros Para El Soporte De Sustancias Con Actividad Antimicrobiana: Carvacrol Y Sorbatos, 1–109.

MOLINA, D. E. (2016). Extracción de pectina de frutos amazónicos mediante un proceso asistido por microondas, 123. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/54961/>

MONCAYO, D. C., BUITRAGO, H. G., ALGECIRA, E., A. (2016). Películas comestibles a base de un biopolímero tipo dextrana Edible films based of dextran biopolymer. Agronomía Colombiana, 34, 107–109. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.58444>

MONCAYO, D. C. (2013). Desarrollo de un recubrimiento comestible a partir de un biopolímero para prolongar la vida útil de frutas frescas, 76. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/44864/>

MONTALVO, C., LÓPEZ, M. A., PALOU, E. (2012). Películas comestibles de proteína: características, propiedades y aplicaciones. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 2, 32–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.04.042>

MORALES, M. (2011). Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola. Universidad autónoma agraria “Antonio narro” division de ciencia animal. Retrieved from <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/474/61786s.pdf?sequence=1>

PABON, A. E. (2016). “caracterización morfológica de ocho árboles promisorios de cacao (theobroma cacao l.), en la parroquia san carlos, cantón la joya de los sachas, provincia de orellana.” universidad nacional de loja. retrieved from http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/9187/1/alba_elizabeth_pabon_valdez.pdf

PAGAN, J. (1999). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. *Alicante*: Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, 1999, 1–138. <https://doi.org/84-688-3807-1>

PÉREZ, P. (2004). Mucílago pulverizado obtenido a partir de la cascara de cacao, una alternativa en la clarificación de jugos en la industrial panelera.

Bdigital Repositorio Institucional UN, 31. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/1168/>

PINEDA, J. E. (2012). Proceso para producir Pectinas Cítricas. *Revista Universidad EAFIT*, 39(129), 21–29.

PÚA, R. A., BARRETO, R. G., VALLEJO F.D. (2015). extracción y caracterización de la pectina obtenida a partir de la cáscara de limón tahití (*Citrus x latifolia*) en dos estados de maduración. @Limentech Ciencia Y Tecnología Alimentaria, 13(2), 145–153.

QUIMBITA, F., RODRIGUEZ, P., VERA. (2013). Uso del exudado y placenta del cacao para la obtención de subproductos. *Revista Tecnológica ESPOL*, 26(1), 8–15. Retrieved from <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/viewFile/272/193>

RASCÓN, C. A., MARTÍNEZ, A. L., CARVAJAL, M. E., MARTÍNEZ, K. G., CAMPA, A. C. (2016). Gelificación iónica de pectina de bajo grado de esterificación extraída de manzanas inmaduras de raleo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(1), 17–24.

RIVERA, S. I. (2016). Elaboración y caracterización de películas comestibles elaboradas con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). Universidad Autónoma Del Estado de México.

RUBIO, M., GUERRERO, J. A. (2012). Polímeros utilizados para la elaboración de películas biodegradables. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2, 173–181. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Rubio-Anaya-et-al-2012.pdf>

SAAVEDRA, H. N., ALGECIRA, E. N. (2003). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *Nova*, 8(14), 171–182. <https://doi.org/10.22490/24629448.448>

SÁNCHEZ, A. D., CONTRERAS, J. C., NEVÁREZ, G. V., AGUILAR, C. N. (2015). Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. *CYTA - Journal of Food*, 13(1), 17–25. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>

SILVA, N. C., BENITES, E. A., GOMERO, J. C. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, (26), 175–199. <https://doi.org/ISSN 1025-9929>

SOTHORNVIT, R., PITAK, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical

properties of banana films. Food Research International. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300746629>

SUAREZ, D. L., OROZCO, D. M. (2014). Obtención y caracterización de pectina a partir de la cascarilla de cacao del theobroma cacao l. Subproducto de una industria chocolatera nacional. Universidad Tecnológica de Pereira - Facultad de Tecnología - Escuela de Química, 1, 1–102. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

TAPIA, C. A. (2015). Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (Theobroma cacao L.) variedad arriba y ccn51 para la elaboración de una infusión, 125. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/11981>

TARAZAGA, N., LLANOS, M. (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas. Dspace.Upv.Es. Retrieved from <http://dspace.upv.es/xmlui/handle/10251/1923>

VALDÉS, I. D., BAÑOS, D. B., VALDÉS, I. F., RAMÍREZ, M. O., PEREIRA, A. G., RODRÍGUEZ, D. C. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 24(3), 52–57. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/rcta/v24n3/rcta08315.pdf>

VALLEJO, A., DÍAZ, R., MORALES, W., SORIA, R., VERA, J., BAREN, C. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. Revista Espam Ciencia, 7(1), 51–58. Retrieved from <http://investigacion.espam.edu.ec/index.php/Revista/article/view/204>

VAN, B. I. (2013). Recubrimientos comestibles de biopolímeros Y aceites esenciales. Aplicación a salmón. Universidad politecnica de valencia. Retrieved from <https://rechercheisidore.fr/search/resource/?uri=10670%2F1.ho2zld>

VELA, J. L. (1997). Obtencion de pectina a partir del exudado de cacao (teobroma cacao sp). Alimentarias. Universidad nacional agraria de la selva. Retrieved from <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/unas/339/fia94.pdf?sequence=1&isallowed=y>

VRIESMANN, L. C., TEÓFILO, R. F., PETKOWICZ, C. O. (2012). Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) with citric acid. LWT - Food Science and Technology, 49(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.04.018>

YU, P. A. (2004). Efecto de la Mezcla de Plastificantes en las Propiedades Físicas, Mecánicas y de Transporte de Películas de Quitosano, 5–22. Retrieved from http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/yu_h_pa/

ZAPATA, A. D., ESCOBAR, C. A., CAVALITTO, S., HOURS, R. A. (2009). Evaluation of Pectin Solubilization Capability From Lemon Peel Using Protopectinase-*Se. Vitae*, 16(1900), 67–74.

ZULOAGA, I. (2017). Film de polietileno (PE). Barcelona, España. Retrieved from https://www.plakagroup.com/getmedia/a430221b-cfe9-43de-9c9f-eea2af1f115c/05-003-FILM_INT1307_ES_LR.pdf