



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultad de Ciencias

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINAS DE PIEL DE LIMA Y SU USO COMO ESTABILIZANTE DE EMULSIONES DE ACEITE EN AGUA

Gloria Chamorro Domínguez

Grado de Química

2018/2019

Trabajo tutelado por Valeria Soledad Eim Iznardo

Departamento de Química

Se autoriza a la Universidad a incluir este trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con fines exclusivamente académicos y de investigación	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Palabras clave del trabajo:

Subproducto, extracción acústica, estabilidad de las emulsiones, análisis de imagen

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Los subproductos de la industria agroalimentaria	5
1.2. Fibra alimentaria	5
1.2.1. Aplicaciones tecnológicas de las pectinas: relación estructura/función	6
1.2.2. Obtención de pectinas: Extracción sólido – líquido	7
1.3. Emulsiones	7
1.3.1. Elaboración de emulsiones para microencapsulación por spray drying	9
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Materia prima	11
3.2. Diseño experimental	11
3.3. Acondicionamiento y caracterización de la piel de lima	12
3.3.1. Determinación de la humedad inicial del concentrado de piel de lima	12
3.4. Extracción de las pectinas del concentrado de piel de lima	12
3.4.1. Determinación de la potencia del equipo de ultrasonidos	13
3.5. Caracterización de las pectinas	13
3.5.1. Determinación de color	13
3.5.2. Identificación y cuantificación de azúcares	14
3.5.3. Determinación del grado de metilesterificación (GME)	16
3.6. Emulsiones	16
3.6.1. Elaboración de emulsiones	16
3.6.2. Caracterización de las emulsiones	17
3.6.2.1. Determinación de la viscosidad	17
3.6.2.2. Determinación del Creaming index	17
3.6.2.3. Determinación del tamaño de partícula	17
3.7. Tratamiento estadístico	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
4.1. Caracterización del concentrado de piel de lima	18
4.1.1. Determinación de la humedad del concentrado de piel de lima	18
4.2. Caracterización de la sonda de ultrasonido	18
4.3. Rendimiento de extracción	19
4.4. Caracterización de las pectinas	19
4.4.1. Determinación de color	19
4.4.2. Composición de monosacáridos	19
4.4.3. Composición de polisacáridos	20
4.4.4. Estructura de las pectinas extraídas	21
4.4.5. Grado de metilesterificación	22
4.5. Caracterización de las emulsiones	23
4.5.1. Viscosidad	23
4.5.2. Creaming Index	23
4.5.3. Tamaño de partícula	24
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

Una de las principales materias primas vegetales procesadas y que contribuyen a la generación de subproductos son los cítricos. Los subproductos resultantes del procesado de los cítricos representan cerca del 50% del peso de los mismos. Estos subproductos constituyen una fuente potencial de compuestos bioactivos a partir de los cuales, mediante procesos de extracción es posible su recuperación. De los compuestos bioactivos presentes en la piel de cítricos, las pectinas destacan por sus propiedades tecnológicas como gelificantes y estabilizantes, siendo habitual su uso en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la estabilidad de emulsiones elaboradas con pectinas extraídas de la piel de las limas y compararlas con emulsiones control elaboradas con un emulsificante comercial (tween 20). Para alcanzar el objetivo planteado se procedió a la extracción de las pectinas mediante la aplicación de asistencia acústica y su posterior caracterización fisicoquímica, determinándose el color, contenido en azúcares y grado de metilesterificación. Finalmente, para poder evaluar su efecto como estabilizante se analizaron tres parámetros característicos de la emulsión: la viscosidad, el creaming index y el tamaño de partícula.

Las pectinas obtenidas mediante asistencia acústica presentaron una ligera coloración debido a la posible extracción de pigmentos presentes en la piel de la lima. En cuanto a la composición en monosacáridos los más abundantes fueron los ácidos urónicos ($46.5 \pm 2.0\%$ molar) y también se detectaron elevadas cantidades de glucosa ($22.7 \pm 0.4\%$ molar), arabinosa ($16.6 \pm 1.1\%$ molar), galactosa y xylosa. La presencia mayoritaria de urónicos nos indica que dichas pectinas están formadas por cadenas de homogalacturonano y la presencia de ramnosa, arabinosa y galactosa nos aporta que presenta cadenas laterales de ramnogalacturonano. En cuanto al grado de metilesterificación se obtuvieron pectinas de alto metoxilo. Esta característica indica que las pectinas obtenidas son adecuadas para la elaboración de geles dulces, mermeladas o para la estabilización de emulsiones.

Respecto a las emulsiones elaboradas con tween 20 y pectinas podemos concluir que ambas presentan una viscosidad adecuada para ser empleadas en el proceso de secado por spray drying, sin embargo, las emulsiones elaboradas con pectinas presentaron una viscosidad significativamente ($p < 0.05$) más altas que las elaboradas con tween 20 (30.0 ± 1.0 y 37.0 ± 2.6 cp para tween 20 y pectinas respectivamente).

Las emulsiones elaboradas con pectinas presentaron mayor estabilidad ya que se observaron valores significativamente más bajos ($p < 0.05$) de creaming index en comparación con las elaboradas con tween 20 (94.5 ± 0.3 y $68.1 \pm 0.1\%$, para tween 20 y pectinas respectivamente).

Por otra parte, mediante el análisis de imagen se pudo determinar que las gotas de aceite presentes en las emulsiones elaboradas con pectinas presentaron un tamaño de partícula inicial mayor que las de la emulsión elaborada con tween 20. Sin embargo, las emulsiones elaboradas con pectinas no presentaron variación en el tamaño de las gotas de aceite incluso después de 72h de almacenamiento (3.6 y $3.6 \mu\text{m}$ de d_{50} a $t=0$ y $t=72$ h respectivamente). Mientras que las gotas presentes en la emulsión preparada con tween 20 aumentaron de tamaño drásticamente (2.7 y $5.0 \mu\text{m}$ de d_{50} a $t=0$ y $t=72$ h respectivamente). Por lo tanto, se puede deducir que las pectinas evitaron fenómenos de inestabilidad tales como coalescencia, floculación, maduración de Oswald y migración de las gotas a la superficie.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Los subproductos de la industria agroalimentaria

La gestión de un gran volumen de residuos junto con la revalorización sostenible de subproductos generados en la industria agroalimentaria supone una preocupación constante, no solo a nivel económico sino también medioambiental. Con el fin de atenuar las consecuencias que conlleva la repercusión de dicho problema, la UE establece, mediante la *Ley de Residuos y Suelos Contaminados* (Directiva 98/2008/CE), la obligación de los Estados Miembros de fomentar tanto la prevención de los impactos adversos de la gestión de residuos como la reducción de subproductos mediante su valorización a través de la reutilización, recuperación y reciclado.

Los subproductos del procesado de las limas generados en el sector agroalimentario son una gran fuente de compuestos bioactivos de interés tales como la fibra, antioxidantes entre otros (Londoño, Sierra, Álvarez, Duque, & Passaro, 2015). Mediante la adecuada aplicación de tecnologías de extracción es posible recuperar estos compuestos para su aplicación como materia prima.

Entre los muchos ingredientes alimentarios de diferente origen y naturaleza que poseen propiedades biológicas, destacan los carbohidratos de diferente grado de polimerización. Tal es el caso de las pectinas, obtenidas principalmente, a partir de subproductos de manzana y de cítricos, que pueden aumentar su potencial como ingredientes bioactivos (Müller-Maatsch et al., 2016). Así, se ha descrito una serie de aplicaciones desde el punto de vista tecnológico, se emplea como estabilizante y gelificante dependiendo de sus características químicas. Además de sus beneficios para la salud asociados a los oligosacáridos pécticos tales como sus propiedades prebióticas, anticancerígenas, inmunomoduladoras y anticolesterolemicas (Holck et al., 2014).

1.2. Fibra alimentaria

Existen muchas definiciones para la fibra alimentaria dependiendo del campo en el cual se aplica, entre estas definiciones el *Codex Alimentarius* la define como los carbohidratos poliméricos libres de almidón propios de la pared celular de las plantas, principalmente celulosa, hemicelulosa y pectinas. La principal fuente de fibra alimentaria, y por tanto de pectinas, presentes en la dieta humano son las paredes celulares de los vegetales (Cummings et al., 2009).

La pared celular es una matriz compleja de polisacáridos que proporciona el soporte y la fuerza esencial para la supervivencia de la célula (Ochoa-Villarreal, Aispuro-Hernández, Vargas-Arispuro, & Angel, 2012). La composición de estos polisacáridos varía en función de la planta y el tejido. Sin embargo, todas las paredes celulares de las plantas tienen una estructura básica similar formada por celulosa, hemicelulosas y pectinas (Caffall & Mohnen, 2009).

- **Celulosa**

La celulosa es un homopolímero de la pared celular formado por la unión lineal de monómeros de D-glucosa, mediante enlaces glucosídicos β -(1,4). Este polisacárido se organiza en microfibrillas unidas mediante puentes de hidrógeno, que a su vez interactúan entre sí formando macrofibras de celulosa. La celulosa se caracteriza por ser insoluble en agua, como consecuencia de la gran cantidad de enlaces por puentes de hidrógeno tanto intra como intermoleculares, establecidos entre oxígeno del anillo de un residuo de glucosa y el hidrógeno del grupo hidroxilo del C₃ de otro residuo vecino (Bajpai, 2016).

- **Hemicelulosas**

Las hemicelulosas son un grupo de polisacáridos con cadenas ramificadas. A diferencia de la celulosa, las hemicelulosas están constituidas por más de un tipo de monosacárido, lo que da lugar a diferentes heteropolímeros. De estos, destacan los xiloglucanos por su presencia mayoritaria en frutas y hortalizas (Derriche & Berrahmoune, 2007), que están formados por una cadena principal de glucosa con ramificaciones α -1,6 de xilosa, que a su vez pueden presentar sustituciones β -1,2 con unidades de galactosa, fucosa y/o arabinosa (Buckeridge, 2010).

- **Pectinas**

Las pectinas forman el grupo de polisacáridos más complejo de la pared celular y son el principal componente de la fracción de la fibra alimentaria conocida como fibra soluble, ya que este tipo de polisacáridos presentan una elevada solubilidad en agua. (Mudgil & Barak, 2013).

1.2.1. Aplicaciones tecnológicas de las pectinas: relación estructura/función

Las pectinas están formadas por unidades de ácido D-galacturónico, aunque también pueden incluir moléculas de otros monosacáridos, como la arabinosa, ramnosa y galactosa. Además, el ácido galacturónico puede presentar el grupo ácido esterificado mediante un grupo metilo, siendo el porcentaje de unidades que lo presentan lo que se conoce como grado de metilesterificación (GME, porcentaje de grupos carboxilos esterificados con metanol). Según el GME, las pectinas se dividen en: pectinas de alto metoxilo (HMP) con GME mayor al 50% y de bajo metoxilo (LMP) con GME menor al 50% (Hosseini, Khodaiyan, & Yarmand, 2016).

Existen otros parámetros que permiten describir la estructura de las pectinas, como pueden ser la linealidad, el número de cadenas o la longitud de estas. Estos parámetros se calculan como relaciones entre los monómeros que forman las pectinas (Kaya et al., 2014; W. Wang et al., 2015).

Por otra parte, las pectinas están formadas principalmente por dos tipos de polisacáridos, que presentan ácido galacturónico en mayor o menor proporción: Homogalacturonanos (HG) y los ramnogalacturonanos (RG) (ver Figura 1). Los HG consisten en largas cadenas lineales de residuos de ácido galacturónico unidos mediante enlaces α -(1,4), que pueden estar parcialmente metilesterificados o acetilados. En cambio, los RG se caracterizan por la presencia de unidades de ramnosa intercaladas en la cadena principal de ácido galacturónico. Las cadenas laterales, unidas a la posición C₄ de la ramnosa, están formadas principalmente por arabinosa y galactosa (Yapo, 2011).

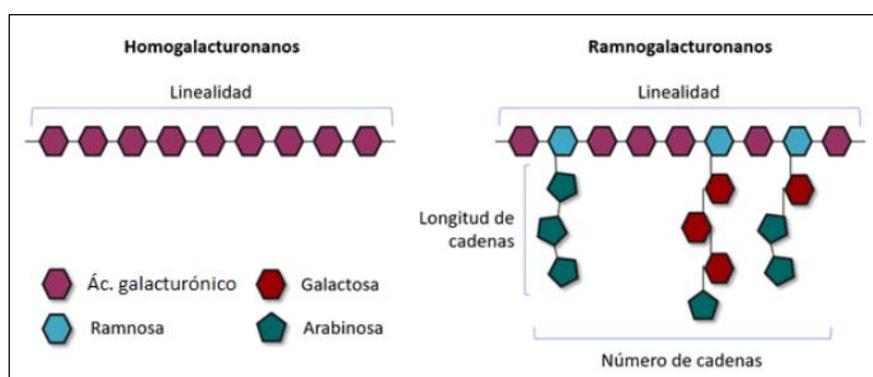


Figura 1. Estructura básica de las pectinas

Las pectinas tienen múltiples utilidades en la industria (alimentaria, farmacéutica y cosmética) y su consumo mundial está creciendo rápidamente, en torno a un 10% anual. En función de la estructura y

composición de las pectinas presentaran propiedades gelificantes, emulsionantes y/o estabilizantes. Concretamente, en la industria alimentaria, las pectinas se utilizan como espesante en productos lácteos (pectinas de bajo metoxilo), como agente gelificante para la producción de mermeladas y jaleas (pectinas de alto metoxilo) y como estabilizante en bebidas. Debido a sus propiedades químicas y actividad bioquímica, su uso está creciendo en muchos otros sectores (Thakur, Singh, & Handa, 1997). Además, en 2010, se consideró a la pectina como un suplemento nutricional en la reducción de las respuestas glucémicas postprandiales y en los niveles de colesterol en sangre (R. Ciriminna et al., 2015).

1.2.2. Obtención de pectinas: Extracción sólido – líquido

La extracción sólido – líquido es una de las operaciones unitarias más ampliamente utilizadas en la industria alimentaria y, entre otros fines, se aplica en la recuperación de ciertos compuestos bioactivos retenidos en la matriz de productos naturales (Pinelo et al., 2006). Se trata de un proceso de transferencia de materia mediante el cual el compuesto de interés pasa desde la matriz del sólido hasta el seno de la fase líquida (Sturzoiu, Stroescu, Guzun, & Dobre, 2011).

Comercialmente, la pectina se extrae a partir de los subproductos obtenidos de manzana y cítricos (May, 1990). Los métodos tradicionales de obtención de pectinas emplean como solventes de extracción ácidos minerales a pH entre 1,5 – 3; temperaturas elevadas entre 60 – 100 °C y tiempos que van desde 0,5 – 7h (Wang et al., 2015). El uso de ácidos minerales en la extracción de pectinas supone un coste elevado, por ello, a la larga ha sido sustituido por ácidos orgánicos como el ácido cítrico (Yapo, 2009) que se ha visto que proporciona rendimientos similares o incluso superiores (Zanella & Taranto, 2015).

Por otro lado, el reciente desarrollo del concepto de “química verde” ha impulsado a la investigación a mejorar los procesos de extracción tradicionales (Boukroufa, Boutekedjiret, Petigny, Rakotomanomana, & Chemat, 2015). Técnicas como la extracción asistida por microondas (Seixas et al., 2014), el uso de campos eléctricos moderados (De Oliveira, Giordani, Gurak, Cladera-Olivera, & Marczak, 2015) y la extracción asistida acústicamente (Wang et al., 2015) permiten mejorar la eficiencia de la extracción, reduciendo el tiempo y aumentando el rendimiento (W. Wang et al., 2016).

En la extracción por ultrasonidos la agitación es provocada por ondas sonoras que generan ondas de presión cuando se transmiten a través de un disolvente y como resultado se producen burbujas o cavidades en el líquido que explotan (cavitación). Así, se produce por una parte, un incremento local de temperatura que favorece la solubilidad donde se produce la explosión de la burbuja y, por otra, un aumento de presión que provoca una mejor penetración del disolvente al interior del sólido. Se caracteriza por poseer ventajas como altas eficacias, automatización del proceso que supone minimización de manipulación de la muestra y la reducción del consumo de disolventes, tiempo necesario y pérdidas de los analitos más volátiles. Debido a ello, se ha seleccionado en este trabajo como método de extracción de pectinas.

1.3. Emulsiones

Las emulsiones se definen como mezclas coloidales que constan de dos fluidos inmiscibles entre sí, donde uno de ellos se encuentra disperso en el otro en forma de gotas muy finas, y este sistema se encuentra estabilizado mediante un agente emulgente (Quintanilla-Carvajal et al., 2009). Tales sistemas tienen como principal función, controlar las propiedades sensoriales de los alimentos, conferir textura, sabor y apariencia homogénea de fases inmiscibles en los alimentos (Guo et al., 2014; McClements, 2007). Sin embargo, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables;

existen mecanismos físico – químicos que pueden ser responsables de la ruptura de las emulsiones y alteraciones en las propiedades, que son los llamados **mecanismos de inestabilidad** (Ver Figura 2) (Aranberri & Binks, 2006; McClements, 2005).

1. **Creaming/sedimentación:** Se trata de un proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño. El creaming describe el movimiento hacia arriba de las gotas debido a que tienen una densidad menor que la del líquido circundante, mientras que la sedimentación es el movimiento hacia abajo de las gotas debido a que tienen una densidad mayor que la del líquido circundante (Robins, 2000).
2. **Floculación:** Es la adhesión de las gotas sin fusionarse y una vez más, no existe una variación en la distribución del tamaño de gotas. Este proceso está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción electrostáticas de Van der Waals y repulsiones de tipo estéricas y de hidratación (Aranberri & Binks, 2006).
3. **Coalescencia:** Es la fusión de gotas para crear unas gotas más grandes con la eliminación de parte de la interfase líquido/líquido. Ese cambio irreversible requeriría un aporte extra de energía para restablecer la distribución de tamaño de partícula original (Aranberri & Binks, 2006; Robins, 2000).
4. **Maduración de Ostwald:** Se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas hasta que éstas últimas prácticamente desaparecen (McClements, 2005).

En general, el complejo proceso de la inestabilidad de las emulsiones suele ocurrir mediante la combinación de los cuatro posibles procesos que pueden suceder simultáneamente a diferentes velocidades.

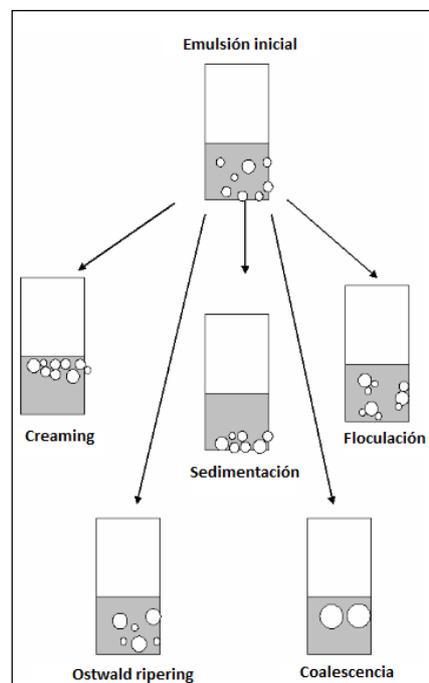


Figura 2. Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones

1.3.1. Elaboración de emulsiones para microencapsulación por spray drying

La elaboración de las emulsiones es un proceso ampliamente utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica, una de sus aplicaciones es la microencapsulación de compuestos lipídicos mediante

spray drying (Sosa, Schebor, & Pérez, 2014). Este método permite transformar la emulsión líquida en un polvo fino que contiene al compuesto dentro de las partículas de polvo (Gharsallaoui, Roudaut, Chambin, Voilley, & Saurel, 2007). Mediante el secado de estos compuestos presentes en una emulsión se puede retardar la auto – oxidación, incrementar su estabilidad, controlar la liberación de compuestos liposolubles o enmascarar sabores y/o aromas (Fang & Bhandari, 2012).

El secado por spray drying es una operación unitaria mediante la cual un producto líquido se atomiza en una corriente de aire caliente para producir instantáneamente un polvo. Para el secado de emulsiones, previamente se necesita la formación de una emulsión de alimentación estable durante un cierto período de tiempo, las gotas de aceite deben ser pequeñas y la viscosidad suficientemente baja para evitar la inclusión de aire en la partícula (Jafari et al. 2008). Los parámetros a considerar en la formación de la emulsión son: Concentración total de sólidos, contenido de aceite, viscosidad, estabilidad, tamaño de las gotas y el método de emulsificación (Nakagawa, Surassmo, Min, & Choi, 2011).

- **Agentes encapsulantes**

Una limitación de la tecnología de secado por spray drying es el número restringido de agentes encapsulantes disponibles. Debido a que la mayoría de los procesos de encapsulación con esta técnica se lleva a cabo a partir de productos acuosos, el agente encapsulante debe ser soluble en agua (Gouin, 2004). Los materiales típicos son:

Goma arábica: Ha sido ampliamente utilizada como material de pared en la microencapsulación de aceites y sabores, debido a sus propiedades de superficie ya que posee aproximadamente un 2% de proteína, alta solubilidad en agua, capacidad de formar soluciones de baja viscosidad a altas concentraciones de sólidos y su alta eficiencia de encapsulación (Frascareli, Silva, Tonon, & Hubinger, 2012). Sin embargo, la goma arábica tienen una capacidad de barrera limitada contra la oxidación debido a que actúa como membrana semipermeable y su permeabilidad al oxígeno es un factor preponderante en el almacenamiento. Además, debido al costo de esta goma se han investigado otros materiales de encapsulación más económicos (Bertolini, Siani, & Grosso, 2001).

Maltodextrinas: Proporcionan buena estabilidad a la oxidación en aceites encapsulados pero presentan poca capacidad emulsionante y baja retención de sabores.

Proteínas (gelatinas y caseinato de sodio): Tienen la propiedad de formar películas, debido a sus diversos grupos químicos, sus propiedades anfóteras, su capacidad de asociación e interacción con diferentes tipos de sustancias, su alto peso molecular y la flexibilidad de sus cadenas moleculares. Sin embargo, su uso es limitado debido a sus bajas solubilidades en agua y alto costo (Gouin, 2004).

- **Agentes tensoactivos**

Los agentes tensoactivos son moléculas anfipáticas que se caracterizan por tener un extremo polar y otro apolar, lo cual le proporciona propiedades importantes como la formación de agregados, auto – asociarse en soluciones acuosas y adsorberse en interfases, por lo que el papel principal de los tensoactivos en emulsiones es aumentar su estabilidad (McClements, 2005). Los más empleados en la industria alimentaria son los no iónicos como por ejemplo el tween 20 (polisorbato 20 ó monolaurato de polioxietileno(20)sorbitano), el cual permite estabilizar emulsiones de aceite en agua (oil – in water, O/W) (Lee, Ahn, & Kwak, 2013).

Los tensoactivos deben tener tres características para mejorar la formación y estabilidad de las emulsiones: deben adsorberse rápidamente en la superficie de las gotas de la emulsión, se debe reducir la tensión interfacial en una cantidad significativa y deben formar una capa que evite la agregación de gotas. También hay que señalar que la capacidad de los tensoactivos para formar micelas en la fase continua de una emulsión puede tener un impacto negativo en la estabilidad, debido a que inducen a la floculación o facilita el transporte de moléculas de aceite entre las gotas (McClements, 2005).

Un método para promover la estabilidad ha sido el uso de polímeros obtenidos de fuentes naturales, como son las pectinas (Guo et al., 2014; Akhtar et al., 2002), capaces de producir emulsiones estables a baja concentración (1 – 2%). Las pectinas en condiciones controladas de pH, concentración, fuerza iónica y temperatura forman soluciones viscoelásticas y redes estructurales, ampliamente empleadas en la preparación de alimentos. Existe la hipótesis que ésta propiedad y el alto contenido de grupos acetilo promueve la alta viscosidad e hidrofobicidad de la pectina (Akhtar et al., 2002). El hecho de que las pectinas mejoren la estabilidad de la emulsión aumentando la viscosidad de dicha emulsión puede llegar a ser un problema al pasarlo por el spray drying ya que presentan un límite de viscosidad que pueden bombear y además, una viscosidad demasiado alta causa la inclusión de aire en las microcápsulas y la obtención de partículas de mayor tamaño (Gharsallaoui et al., 2007).

El hecho de sustituir los agentes tensoactivos comerciales por compuestos que nos puedan proporcionar las mismas propiedades pero que provengan de subproductos generados por la industria agroalimentaria, como son las pectinas, hace que sea un avance tanto a nivel económico como medioambiental.

2. OBJETIVOS

Este Trabajo de Fin de Grado se enmarca en la línea de investigación relacionada con el aprovechamiento de subproductos, desarrollada por el grupo de Ingeniería Agroalimentaria del Departamento de Química de la Universidad de las Islas Baleares.

El objetivo general consiste en evaluar la estabilidad de emulsiones elaboradas con pectinas extraídas de las pieles de las limas y compararlas con las elaboradas con tween 20 (agente emulgente comercial) para su utilización a la hora de microencapsular compuestos mediante la técnica de spray drying.

Para alcanzar el objetivo general propuesto se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Llevar a cabo la extracción de las pectinas de la piel de lima mediante asistencia acústica empleando ultrasonidos de potencia.
- Realizar la caracterización fisicoquímica de las pectinas, principal tipo de polisacárido extraído.
- Elaborar dos emulsiones, una obtenida empleando un agente tensoactivo comercial (tween 20) y la otra sustituyendo este agente por pectina de piel de lima. Evaluar las características de las emulsiones en relación a su uso para microencapsulación por spray drying.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

La materia prima, lima persa, se adquirió en mercados locales en Palma de Mallorca (España). Para el estudio se utilizaron únicamente los subproductos de la lima después de extraer el zumo (ver Figura 3).



Figura 3. Lima Persa

3.2. Diseño experimental

En base a poder evaluar la estabilidad de las emulsiones con pectinas, la calidad de las pectinas en el proceso de extracción, y por tanto para alcanzar el objetivo principal de este trabajo, primeramente se obtuvo un concentrado de piel de lima mediante un proceso de secado, molienda y tamizado.

Seguidamente se realizó la extracción de pectinas asistida acústicamente utilizando ácido cítrico a pH = 1.5. Se realizó la caracterización de las pectinas extraídas, para ello se determinó el color, la composición de monosacáridos (azúcares neutros y ácidos urónicos) y polisacáridos de los extractos obtenidos y con la finalidad de conocer el tipo de las pectinas presentes en dichos extractos se determinó su grado de metilesterificación.

Y por último, se elaboraron dos tipos de emulsiones, unas con un agente emulgente comercial, tween 20 (emulsión control) y otra con un subproducto natural, las pectinas extraídas de las pieles de las limas (emulsión pectinas). De dichas emulsiones se determinó la viscosidad, el creaming index y el tamaño de partículas. En la Figura 4 se muestra un esquema del diseño experimental.

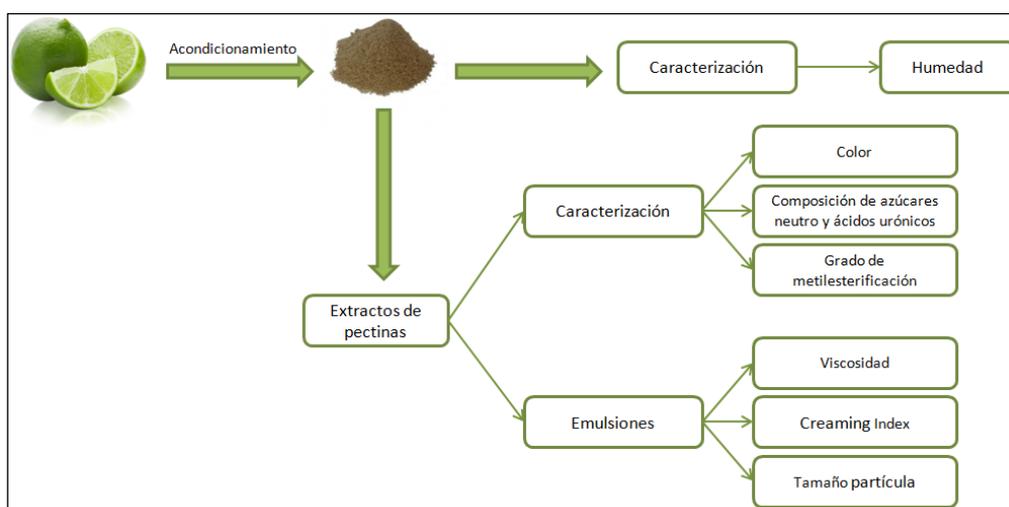


Figura 4. Esquema del diseño experimental

3.3. Acondicionamiento y caracterización de la piel de lima

Con el objetivo de estabilizar y obtener un subproducto homogéneo, la materia prima se sometió a un proceso de acondicionamiento. Se generó un concentrado de piel de lima (CPL) a partir de 30 limas (1.130 Kg). Este procedimiento incluyó la extracción del zumo, el secado, molienda y tamizado de la muestra, procesos que se describen a continuación.

En primer lugar, cada lima se cortó de manera transversal y se extrajo el zumo con un exprimidor automático (Fagor, España). Cada una de las mitades de piel se cortó en cuatro partes y se sometió a un proceso de secado en un secadero convectivo de vegetales a escala piloto a una temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$ y a una velocidad de aire de 0.5 ± 0.1 m/s hasta peso constante.

Posteriormente, la muestra se molió (ZM 200 – Retsch®, Alemania) y se tamizó, seleccionando un tamaño de partícula $< 0,05$ mm (Ver figura 5). Todo el procedimiento descrito se realizó con el objetivo de estabilizar y obtener una materia prima homogénea adecuada para la extracción de pectinas.



Figura 5. Concentrado de piel de lima (CPL)

Finalmente, la muestra tamizada se envasó al vacío (EVT – 10, Tecnotrip, España), en bolsas de películas de poliamida/polietileno 20/70 con permeabilidad al O_2 $2,58 \times 10^{-7}$ mol m^{-2} s^{-1} Pa^{-1} , suministradas por Guerrero Coves SL (Valencia, España). Las mismas se conservaron a 4°C y protegidas de la luz hasta su procesado. Este concentrado de piel de lima (CPL) fue la materia prima utilizada para llevar a cabo las extracciones de pectinas.

3.3.1. Determinación de la humedad inicial del concentrado de piel de lima

Para determinar el contenido de humedad del concentrado de piel de lima (CPL) se siguió el procedimiento descrito por la AOAC número 934.06 (AOAC, 1997). Se secaron aproximadamente 2.0 ± 0.2 g de muestra en una estufa de vacío (Vaciotem – T, Selecta, España) a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta peso constante (aproximadamente 24 horas). A partir de la variación del peso se calculó el valor del contenido de humedad y el resultado se expresó en gramos de agua/100g de CPL en base húmeda (b.h).

3.4. Extracción de las pectinas del concentrado de piel de lima

La extracción de las pectinas se llevó a cabo con un procesador de ultrasonidos UP400S (Hielscher Ultrasound Technology, Alemania) con una frecuencia de 24 kHz al cual se le acopló una sonda (14 mm y una longitud de 100 mm). Se utilizó un vaso encamisado de 250 mL de capacidad conectado a un baño termostático (Selecta, Tectron Bio, España), la temperatura se mantuvo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante la extracción. Como disolvente de extracción se utilizó una disolución de ácido cítrico a $\text{pH} = 1.5$. En el proceso de extracción se utilizó una relación de CPL/disolvente de 9/300 (p/v, g/mL) durante 30 min. Las condiciones experimentales establecidas fueron de 100% de amplitud y ciclos de 0.5 s. Este proceso se llevó a cabo tres veces para obtener la cantidad de pectinas necesaria.

Después de la extracción se procedió según la metodología propuesta por Panchev, Kirtchev, & Kratchanov, (1989) y Canteri - Schemin et al., (2005). Se filtró la mezcla de ácido cítrico con CPL a través de una malla con un tamaño de abertura de $\sim 0,7$ mm. El sólido se descartó y el filtrado líquido se trató con dos veces su volumen de etanol 96% con el objetivo de precipitar las pectinas y se homogenizó con un agitador magnético a 1100 rpm durante 10 min. Finalmente se centrifugó a 3900 rpm (4218, ALC, Italia) durante 20 min para precipitar las pectinas. El extracto se separó por filtración al vacío utilizando filtros Whatman GF/C (filtros de microfibras de vidrio, libre de celulosa) de 90 mm. Se lavó 2 veces con 40 mL de etanol 96% y una vez con 50 mL de acetona.

Las pectinas se secaron en una estufa a una temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas. Posteriormente, se molieron (A10, IKA Werke, Alemania) y se tamizaron (FIT – 0200, Filtra, España), seleccionando un tamaño de partícula $< 0,035$ mm. El rendimiento se calculó como gramos de pectinas extraídas por 100 g de concentrado de piel de lima (CPL) en base seca sometida a la extracción.

3.4.1. Determinación de la potencia del equipo de ultrasonidos. Estudio calorimétrico

Con el objetivo de establecer la densidad acústica ($W \cdot L^{-1}$) suministrada al sistema, se procedió a realizar una calibración por calorimetría. Esta metodología consiste en la determinación del incremento de temperatura del disolvente de extracción que tiene lugar durante los primeros minutos de la aplicación de ultrasonidos, sin presencia de muestra y sin termostatar el sistema (Raso et al., 1999). La temperatura del medio se registró cada segundo durante los primeros 5 minutos de aplicación de US, mediante una sonda de 22 mm (N2014, Comark, Korea). El cálculo de la densidad acústica se realizó empleando la Ecuación 1 (Sivakumar & Pandit, 2001), a partir de la curva de temperatura – tiempo determinada experimentalmente por triplicado.

Ecuación 1.
$$\text{Densidad acústica} = \frac{dT}{dt} \cdot C_p \cdot m$$

Donde:

- C_p : Capacidad calorífica ($4305 \text{ J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ a 25°C)
- dT : Diferencial de temperatura ($^\circ\text{C}$)
- dt : Diferencial de tiempo (s)
- m : Masa del disolvente (Kg)

3.5. Caracterización de las pectinas

3.5.1. Determinación de color

La determinación física del color de las pectinas extraídas se realizó una vez molidas y tamizadas utilizando un espectrofotómetro (CM5, Konica Minolta, Japón) con componente especular excluido, iluminante D65, una apertura de 30 mm y un observador con un ángulo de 10° . Se utilizaron las coordenadas CIELab* (Wang et al., 2015); determinándose los valores de L^* (luminosidad), a^* (define la desviación del punto acromático hacia el rojo si $a^* > 0$, hacia el verde si $a^* < 0$) y b^* (define la desviación hacia el amarillo si $b^* > 0$, hacia el azul si $b^* < 0$) (Drake & Drake, 2011).

La diferencia total de color (ΔE) (Ecuación 2) (Patsilnakos, Ragno, Carradori, Petralito, & Cesa, 2018), se calculó utilizando como referencia el color blanco. Siendo L_o , a_o y b_o los valores correspondientes al color blanco en el espacio CIELab* ($L_o = 100$; $a_o = 0$; $b_o = 0$) (Pérez et al., 2016).

Ecuación 2.
$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_o)^2 + (a^* - a_o)^2 + (b^* - b_o)^2}$$

3.5.2. Identificación y cuantificación de azúcares

Los azúcares, unidades básicas de los diferentes tipos de polisacáridos que forman las paredes celulares de los extractos obtenidos, se liberaron mediante un proceso de hidrólisis ácida según la metodología descrita por González-Centeno et al. (2010) y Rodríguez-González et al. (2011).

Se pesaron aproximadamente 5 mg de cada una de las muestras, se mezclaron con 200 μL de H_2SO_4 12M (equivalente al 70% v/v) y se incubaron a temperatura ambiente durante 3 horas. A continuación, se adicionaron 2.2 mL de agua destilada (concentración final de H_2SO_4 1M) y se incubaron en un bloque seco a 100°C durante 2,5 horas produciéndose así la hidrólisis total de los diferentes tipos de azúcares. Para la determinación de los ácidos urónicos, el proceso de hidrólisis es igual, pero la fase de incubación a 100°C sólo se realizó durante 1 hora.

- **Determinación de azúcares neutros**

Una vez llevada a cabo la hidrólisis, se añadió 200 μL de 2 – deoxyglucosa ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) como patrón interno, con el objetivo de determinar de forma cuantitativa la presencia de ramnosa (Rha), fucosa (Fuc), arabinosa (Ara), xilosa (Xyl), manosa (Man), galactosa (Gal) y glucosa (Glc).

Seguidamente, 1 mL de hidrolizado se neutralizó con 200 μL de NH_3 al 25% y se mezcló con 100 μL de NH_3 3M que contenía NaBH_4 al 15% p/v como agente reductor, así se consiguió la rotura de los ciclos que presentan los azúcares en su estructura y su paso a alditoles por reducción del grupo aldehído a alcohol. Posteriormente, las muestras se incubaron durante 1h a 30°C. Una vez enfriadas se añadió 50 μL de ácido glacial, 450 μL de 1 – methylimidazol, como catalizador, y 3 mL de anhídrido acético, se homogeneizó e incubó a 30°C durante 30 minutos. De esta forma se consiguió el paso a alditol acetatos, compuestos detectables mediante cromatografía de gases. Estos compuestos se extrajeron con diclorometano. La fase orgánica, la cual contenía los alditoles acetatos se separó mediante centrifugación, para posteriormente eliminar la fase acuosa por aspiración. Finalmente, el diclorometano se evaporó mediante una corriente de argón a 40°C.

Los azúcares neutros, derivatizados y convertidos en sus correspondientes alditoles acetatos, se separaron isotérmicamente a 220°C mediante cromatografía de gases. Se utilizó una columna capilar DB – 225 (J &W Scientific, Folsom, CA, USA) de 30 m de longitud con un diámetro interno y un espesor de 0,25 mm y 0,15 μm , respectivamente. Se utilizó argón como gas portador con un caudal de 20 mL/min. Las temperaturas del inyector y del detector FID se programaron a 220°C y 230°C, respectivamente.

- **Cuantificación de ácidos urónicos**

El contenido de ácidos urónicos (UA) de las pectinas extraídas se determinó utilizando el método colorimétrico descrito por Blumenkrantz & Asboe - Hansen (1973). El ácido galacturónico disuelto en agua destilada se utilizó como patrón para la determinación de la recta de calibrado (rango de concentración de la recta 0 – 80 μg de ácido galacturónico/mL).

Para la obtención de la recta de calibrado se introdujeron tubos de ensayo, en un baño de agua-hielo, se añadió a cada tubo 3 mL de una disolución 50 mM de borato de sodio en H_2SO_4 concentrado, seguidamente se adicionaron, 0.5 mL de la disolución estándar de ácido galacturónico y se incubaron durante 10 min a 100°C. Seguidamente, se introdujeron durante 2 min en un baño de agua-hielo y se les añadió 100 μL de una disolución de m-fenilfenol (al 0.15% en peso en NaOH al 0.5% en peso como disolvente), a todos los tubos excepto a los blancos, ya que este compuesto reacciona con el grupo ácido de la molécula de ácido galacturónico dando una tonalidad rosada a la disolución. Pasados unos

30 min se leyó la absorbancia de cada uno de los tubos con un espectrofotómetro UV visible (UV-2401 PC, Shimadzu, Japón) a 524 nm y se obtuvo la recta de calibrado.

Para la determinación de los ácidos urónicos presentes en las diferentes muestras se procedió de forma análoga, introduciendo 0.5 mL de hidrolizado de cada una de las muestras en lugar de la solución estándar de ácido galacturónico. La determinación de la absorbancia permitió, a partir de la recta de calibrado, obtener la cuantificación de los ácidos urónicos presentes en cada una de las muestras. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

- **Composición en polisacáridos: celulosa, hemicelulosa y pectinas**

Considerando la composición de los polímeros presentes en la pared celular, se calculó de forma aproximada la proporción de pectinas, celulosa y hemicelulosa de los extractos a partir de las Ecuación 3 (González-Centeno, 2013).

Ecuación 3.
$$\% \text{ Pectinas} = \frac{[\text{Rha}] + [\text{Ara}] + [\text{Gal}] + [\text{UA}]}{\text{Azúcares totales}} \cdot 100$$

Ecuación 4.
$$\% \text{ Celulosa} = \frac{0,9 \cdot [\text{Glc}]}{\text{Azúcares totales}} \cdot 100$$

Ecuación 5.
$$\% \text{ Hemicelulosa} = \frac{[\text{Fuc}] + [\text{Xyl}] + [\text{Man}] + 0,1 \cdot [\text{Glc}]}{\text{Azúcares totales}} \cdot 100$$

- **Estructura de las pectinas**

Con el objetivo de tener una visión clara sobre la disposición estructural que presentan las pectinas, se calcularon tres ratios molares. Se dividió el contenido en moles de los ácidos urónicos entre el resto de azúcares que componen a las pectinas (ramnosa, galactosa y arabinosa), lo cual permite conocer la linealidad de las pectinas extraídas (Ecuación 6). Las cadenas de ramnogalacturonanos (RG) son las más frecuentes en las pectinas y considerando que están unidas a la cadena principal por unidades de ramnosa, la división entre el contenido en moles de ácido urónico y ramnosa será inversamente proporcional a la cantidad de cadenas (Ecuación 7). La longitud de las cadenas se calculó dividiendo el contenido en moles de galactosa más arabinosa entre los moles de ramnosa (Ecuación 8) (Kaya et al., 2014; Wang et al., 2015) (Figura 6).

Ecuación 6.
$$\text{Linealidad} = \frac{[\text{UA}]}{[\text{Rha}] + [\text{Gal}] + [\text{Ara}]}$$

Ecuación 7.
$$\text{Cantidad de cadenas} = \frac{[\text{UA}]}{[\text{Rha}]}$$

Ecuación 8.
$$\text{Longitud de cadenas} = \frac{[\text{Gal}] + [\text{Ara}]}{[\text{Rha}]}$$

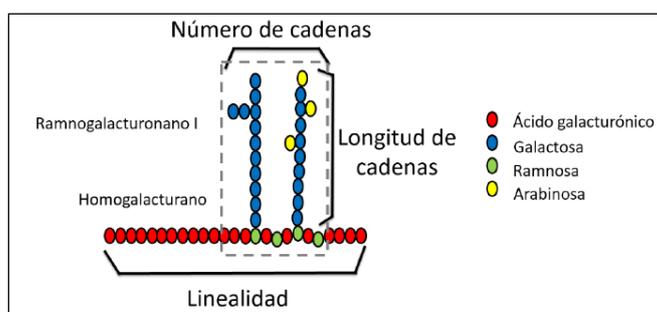


Figura 6. Linealidad, cantidad de cadenas y longitud de cadenas de las pectinas

3.5.3. Determinación del grado de metilesterificación (GME)

Otro parámetro importante para la caracterización de las pectinas es el GME, el cual se determinó mediante espectroscopia infrarroja (FTIR) siguiendo el método descrito por Manrique & Lajolo (2002).

Para ello, se mezcló 5 mg de pectinas y 10 mg de KBr. Se elaboró una pastilla con la ayuda de la prensa hidráulica y se analizó por FTIR (IFS 66, Bruker, Estados Unidos) de resolución 3 cm⁻¹. De esta forma se obtuvo el espectro con las diferentes bandas que presentan las pectinas.

El GME se determinó calculando la relación entre el área del pico correspondiente a la vibración de los grupos carboxilo metilesterificados y la suma de ésta área más el área correspondiente a la vibración de los grupos carboxilo libres (ver Ecuación 9). Dicha relación se sustituyó luego en la ecuación propuesta por Manrique & Lajolo (2002) (Ver Ecuación 10).

Ecuación 9.
$$R = \frac{A_{1740}}{A_{1740} + A_{1630}}$$

Ecuación 10.
$$GME = 124,7R + 2,2013$$

Donde A₁₇₄₀ y A₁₆₃₀ representan las intensidades de absorción de las bandas a 1740 cm⁻¹ (grupos carboxilo metilesterificados) y 1630 cm⁻¹ (grupos carboxilo libres). Los espectros se realizaron por triplicado.

3.6. Emulsiones

3.6.1. Elaboración de emulsiones

Se elaboraron dos tipos de emulsiones que se diferenciaron en que una presentaba Tween 20 y otra pectinas. Cabe destacar que las pectinas son capaces de producir emulsiones estables a baja concentración, en torno a un 1 – 2% (Alba, Sagis, & Kontogiorgos, 2016). En la siguiente tabla se muestra la composición de cada emulsión (ver Tabla 1).

Tabla 1. Composición para la elaboración de las emulsiones

	EMULSIÓN CONTROL	EMULSIÓN PECTINAS
Agua (%)	60.00	60.00
Maltodextrina (%)	35.86	35.00
Aceite de girasol (%)	4.00	4.00
Tween 20 (%)	0.14	-
Pectina de piel de lima(%)	-	1.00

- **Emulsión control: Aceite – agua – tween**

La emulsión se preparó en dos partes: Por un lado, se disolvió la maltodextrina en un 85% del agua correspondiente a la formulación descrita en la Tabla 1, agitando magnéticamente y a 40°C, hasta su total disolución. Una vez disuelta, se enfrió hasta alcanzar los 35°C. Por otro lado, al resto del agua se añadió el tween 20 y se homogeneizó en el ultraturax a 16000 rpm. Seguidamente se añadió el aceite y se siguió con el ultraturax durante 12 min. A continuación, con cuidado se eliminó la espuma formada, se juntaron las dos partes y se agitó a 200 rpm durante 2 min.

- **Emulsión pectinas: Aceite – agua – pectinas**

La emulsión se preparó disolviendo la maltodextrina en un 100% del agua, agitando magnéticamente y a 40°C, hasta su total disolución. Se añadió las pectinas y se homogeneizó hasta su total solubilización (aproximadamente 15 min). Posteriormente, la mezcla se colocó en el ultraturax a 16000 rpm durante

8 min. Y finalmente, se agregó el aceite y se mantuvo la agitación durante 10 min más, teniendo la mezcla refrigerada en un baño agua – hielo (Hernandez Sanchez, Cuvelier, & Turchiuli, 2015).

3.6.2. Caracterización de las emulsiones

3.6.2.1. Determinación de la viscosidad

Las medidas de viscosidad se realizaron con un viscosímetro rotacional (STS – 2011, Selecta, España) sobre un volumen de muestra de 250 mL a una temperatura de 25°C. Se hizo uso de un husillo de tipo R2 a una velocidad de 60 rpm. Este equipo, mide electrónicamente el ángulo de desviación del eje dando el valor de la fuerza de torsión, a partir de este dato y de la velocidad, el equipo calcula directamente la viscosidad en centipoise (cp). Esta medida se realizó por triplicado.

3.6.2.2. Determinación del Creaming index

La estabilidad de la emulsión se midió mediante el método descrito por Verkempinck et al. (2018). Se vertió la emulsión en una probeta de 10 mL y se dejó reposar a 25°C durante aproximadamente 15 h. El creaming index se calculó a través de la siguiente fórmula (Ecuación 11):

Ecuación 11.
$$\text{Creaming index (CI)} = \frac{\text{SH}}{\text{TH}} \cdot 100$$

Siendo, TH la altura total de la emulsión y SH, la altura de la fase formada en la parte inferior de la probeta. Cuanto mayor sea el valor del Creaming index menos estable será la emulsión. Esta medida se realizó por triplicado.

3.6.2.3. Determinación del tamaño de partícula

Para evaluar la estabilidad de las emulsiones se determinó el tamaño de las gotas de aceite mediante microscopía óptica (BX60, Olympus, España) y análisis de imagen (ImageJ versión 1.80, Creative commons license). Cada emulsión se diluyó en agua en una proporción 3:20 μL (emulsión:agua). A continuación, se añadieron dos gotas de muestra sobre el portaobjetos y se cubrió con el cubreobjetos. Se colocó el portaobjetos sobre la patina sujetándola con las pinzas metálicas y se tomaron fotos a tiempo 0 (inmediatamente después de la preparación de la emulsión), 1.5h, 3h y 72h. Se adquirieron como mínimo, 20 fotos por muestra y se analizaron 500 partículas. Las emulsiones se conservaron en nevera a una temperatura de 4°C. A partir de las fotografías se realizó el análisis de imagen, determinándose el tamaño de partícula.

Para describir las distribuciones del tamaño de partícula se calcularon los percentiles 10, 50 y 90 (d_{10} , d_{50} y d_{90} respectivamente). De tal forma que d_{50} representa el valor medio del tamaño de gotas de aceite. A partir de estos datos se calculó un parámetro de amplitud de la distribución (span) que permite tener una medida del grado de dispersión de los datos alrededor de la mediana (Ecuación 12) (Shamaei et al., 2017)

Ecuación 122.
$$\text{Span} = \frac{d_{50}}{d_{90} - d_{10}}$$

3.7. Tratamiento estadístico

Los resultados experimentales correspondientes a la caracterización de las pectinas y a la viscosidad y creaming index de las emulsiones, se presentaron como la media \pm desviación estándar de las “n” mediciones realizadas (como mínimo 3). El estudio de la variabilidad de las muestras respecto a los diferentes parámetros analizados en la comparación de emulsiones se llevó a cabo con ayuda del programa estadístico R (versión 3.5.3., R Foundation for Statistical Computing, Austria). Se evaluó la

normalidad y homogeneidad de varianza de los datos para las variables en estudio utilizando el Test de la t de Student para determinar si hay diferencias significativas (95% de significancia). En caso de no ser normales y/o no tener varianzas homogéneas este test se substituyó con el test Mann – Whitney – Wilcoxon.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan y discuten los resultados obtenidos en este trabajo. En primer lugar se presentan los resultados relacionados con la obtención de pectinas a partir del concentrado de piel de lima mediante extracción asistida acústicamente y su caracterización fisicoquímica. Seguidamente, se presentan los resultados relacionados al uso de pectinas como sustituto de tween 20. Se evaluó la estabilidad de las emulsiones mediante la determinación de los siguientes parámetros: viscosidad, creaming index y tamaño de partícula.

4.1. Caracterización del concentrado de piel de lima

4.1.1. Determinación de la humedad del concentrado de piel de lima

Con el objetivo de obtener un material estable y homogéneo, que sea adecuado como materia prima para la extracción de pectinas, se procedió a la obtención del concentrado de piel de lima según la metodología descrita en el apartado 3.3. El contenido en humedad de la piel de lima fue de $71.9 \pm 2.8\%$ b.s., después del secado se obtuvo un concentrado de piel de lima (CPL) con un contenido de humedad del $9.45 \pm 0.13\%$ b.s. El bajo contenido de humedad del CPL le confiere estabilidad, lo que indica que el acondicionamiento realizado fue adecuado y que es una materia prima apropiada para su uso como fuente de pectinas, razón por la cual ha sido ampliamente usada a nivel industrial para este fin (Casas-Orozco et al., 2015).

4.2. Caracterización de la sonda de ultrasonido

La densidad de la potencia acústica generada por la sonda de ultrasonidos de 22 mm de diámetro, se determinó mediante calorimetría (apartado 3.4.1). La densidad acústica obtenida fue de $217.6 \pm 17.3 \text{ W L}^{-1}$.

4.3. Rendimiento de extracción

Se obtuvo un rendimiento de extracción de pectinas del $71.3 \pm 6.3 \text{ g}/100 \text{ g}$ de CPL b.s.

Al comparar con estudios anteriores sobre la extracción de pectinas por ultrasonidos a partir de subproductos de cítricos, tenemos que el rendimiento obtenido por Wang et al. (2015) fue de 27.34 g de extracto rico en pectina/ 100 g piel de pomelo b.s. con 56 min de extracción a 67.7°C utilizando una solución de HCl (pH 1.5) mientras que F. Oliveira et al. (2016) obtuvieron un rendimiento de 12.67 g de extracto rico en pectina/ 100 g de piel de maracuyá b.s. con 10 min de extracción a 85°C utilizando una solución de ácido nítrico (pH 2). Tal y como se puede observar, los rendimientos obtenidos son menores que los obtenidos en el presente trabajo, a pesar de utilizar temperaturas mayores; posiblemente esto sea consecuencia del acondicionamiento previo del subproducto, la intensidad de la potencial del ultrasonido, las condiciones del proceso de extracción, la materia prima y el tipo de solvente de extracción.

4.4. Caracterización de las pectinas

4.4.1. Determinación de color

Según la FAO (2009), las pectinas comerciales presentan un color blanco, amarillento, verdoso o marrón. La fibra alimentaria, y por tanto las pectinas, no son coloreadas en la naturaleza, sino más bien blancas. Sin embargo, en las paredes vegetales se encuentran pigmentos orgánicos que pueden ser extraídos junto a las pectinas. Las frutas y vegetales de colores amarillos y verdes suelen ser ricos en flavonoides y carotenoides; en limas se pueden encontrar los citroflavonoides.

Los resultados obtenidos en la determinación física del color de las pectinas, en el espacio de color CIE Lab*, se presentan en la Tabla 2. Los valores negativos de “a” y positivos de “b” indican una coloración verde – amarilla con una “L” próxima a 100 por tanto, una pectina con un color blanquecino. La presencia de color de las pectinas podría indicar que en el proceso de extracción además de pectinas podrían haberse extraído otros compuestos coloreados presentes en la piel de lima o bien por posibles reacciones de pardeamiento (Wang et al., 2015). En este trabajo, el proceso de extracción se llevó a cabo a baja temperatura (25°C) por lo que no debería esperarse este tipo de reacciones, sin embargo al aplicar ultrasonido de potencia se puede observar un incremento local de la temperatura y a pesar de que durante todo el experimento se controló la temperatura del sistema de extracción, es probable que en puntos más cercanos a la sonda la solución se calentará.

Se calculó la diferencia de color (ΔE) respecto al color blanco. El hecho de obtener un valor superior a cinco hace que sea detectable por el ojo humano y por tanto, proporcione un suave color a la emulsión, que en ciertas aplicaciones puede ser interesante (Janiszewska et al., 2015).

Tabla 2. Parámetros de color medidos para los extractos

L	a*	b*	ΔE
85.47 \pm 0.16	- 0.71 \pm 0.04	16.27 \pm 0.09	21.83 \pm 0.06

4.4.2. Composición de monosacáridos de los extractos

El contenido de los azúcares, unidades básicas que componen las pectinas y demás polisacáridos, se muestran en la Tabla 3. En dicha tabla se presentan los resultados obtenidos en este trabajo y valores bibliográficos de estudios similares. Como puede observarse los ácidos urónicos fueron los monosacáridos más abundantes. También se detectaron cantidades importantes de glucosa, arabinosa, galactosa y xylosa en este orden, y pequeñas cantidades de ramnosa y manosa.

El elevado contenido en glucosa podría indicar que la aplicación de energía acústica posibilita la extracción de polisacáridos no pécticos que contienen glucosa en su estructura, tales como hemicelulosa y/o celulosa, o bien que parte de los azúcares simples han quedado retenidos en la estructura durante la extracción. Esto explica que hayamos obtenido unos rendimientos tan elevados. Dicho perfil de monosacáridos es similar a los reportados por Wang et al. (2015) y Wang et al. (2016) quienes obtuvieron extractos ricos en pectinas a partir de cítricos mediante la aplicación de ultrasonidos. En los resultados obtenidos por estos autores se observa que el efecto de la potencia acústica dependió del tiempo de extracción ya que a mayor tiempo de extracción se produjo un aumento significativo del contenido de glucosa, posiblemente debido a la extracción de hemicelulosa.

Tabla 3. Composición de monosacáridos de los extractos (expresado en % molar) comparándola con valores bibliográficos

Monosacárido	T = 25 °C pH = 1.5 Á. cítrico Tiempo = 30 min	T = 67.7 °C pH = 1.5 HCl Tiempo = 56 min	T = 67 °C pH = 1.5 HCl Tiempo = 28 min
	% Molar	% Molar (Pectinas de pomelo (Wang et al., 2015))	% Molar (Pectinas de pomelo (Wang et al., 2016))
Ramnosa	1.58 ± 0.06	7.58 ± 1.03	7.23 ± 0.54
Fucosa	0.41 ± 0.06	0.89 ± 0.30	0.75 ± 0.06
Arabinosa	16.6 ± 1.1	12.72 ± 3.21	14.76 ± 0.74
Xylosa	4.48 ± 0.09	2.73 ± 0.42	3.04 ± 0.11
Manosa	2.79 ± 0.14	0.98 ± 0.27	2.57 ± 0.19
Galactosa	4.9 ± 0.5	14.25 ± 2.47	11.87 ± 0.91
Glucosa	22.6 ± 0.4	10.82 ± 1.42	2.42 ± 0.02
Á.urónicos	46 ± 2	50.03 ± 1.18	56.39 ± 2.56

4.4.3. Composición de polisacáridos de los extractos

En la Figura 7 se representa la proporción aproximada de pectinas, celulosa y hemicelulosas de los extractos obtenidos, calculada a partir de la composición porcentual en azúcares simples de la Tabla 3, según las ecuaciones 3, 4 y 5 respectivamente.

Las pectinas fueron el componente mayoritario en los extractos, representando el 70%. Ello se deduce del elevado contenido en ácidos urónicos (46,5% molar) que presentaron, así como de la concentración intermedia de arabinosa (16.64% molar), y de la presencia, en menor medida, de galactosa (4.9% molar) y ramnosa (1.58% molar) (Tabla 3). La celulosa, con un porcentaje de 20%, constituyó el segundo polisacárido más abundante en los extractos. Por último, los heteropolisacáridos englobados dentro del grupo de las hemicelulosas fueron los minoritarios con un porcentaje de un 10%.

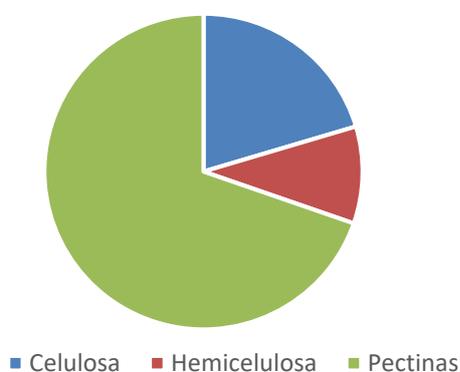


Figura 7. Composición en celulosa, hemicelulosa y pectinas de los extractos

Por otra parte, se obtuvo un 33.3 ± 1.0 g de pectinas en 100 g de lima, dato muy próximo a los niveles típicos de pectina en cáscara de cítricos que es de un 30 g de pectina en 100 g de lima (Sriamornsak, 2003). Autores como Moneim et al., (2013) obtuvieron un 20.75 g de pectinas en 100 g cáscara de limón mediante el método tradicional con 24 horas de extracción a temperatura ambiente y utilizando como solvente de extracción ácido clorhídrico a pH 3.5.

4.4.4. Estructura de las pectinas

La presencia mayoritaria de ácidos urónicos indica que las pectinas están principalmente formadas por cadenas de homogalacturonano (HG); mientras que la presencia de ramnosa, arabinosa y galactosa pueden indicar que contenían también cadenas laterales de ramnogalacturonano (RG) (Willats, Knox, & Mikkelsen, 2006). Se calcularon tres ratios molares que permiten conocer de forma aproximada las características estructurales de las pectinas como puede ser: la linealidad (Ecuación 6), el número de cadenas laterales (Ecuación 7) y la longitud de las cadenas (Ecuación 8). En la tabla 4 se presentan los valores obtenidos en este trabajo.

Tabla 4. Estructura de las pectinas extraídas

Linealidad	2.0 ± 0.2
Cantidad de cadenas	29.45 ± 0.11
Longitud de las cadenas	13.7 ± 1.6

Se puede observar que los valores de linealidad de las pectinas obtenidos en este trabajo son similares a los valores bibliográficos. Wang et al. (2016) obtuvieron valores de linealidad de 1.46 (extracción con ultrasonidos, HCl a pH 1.5, 65°C y 28 min) y 2.52 (sin ultrasonidos, HCl a pH 1.5, 80°C y 90 min), en pectinas extraídas de piel de pomelo.

Respecto a la cantidad de cadenas de las pectinas, es importante destacar que la manera de expresar los resultados puede ser como en nuestro estudio, o bien la inversa de dicho valor. El valor obtenido en este trabajo concuerda con los valores descritos por Kaya et al., (2014). Dichos autores determinaron valores de cantidad de cadenas entre 25 y 57, dependiendo de la materia prima de la cual se extraen las pectinas (pomelo y limón, respectivamente) y tipo de solvente empleado para la extracción. El valor de la cantidad de cadena varió desde 35 al emplear ácido nítrico (pH 1.6), a 50 al emplear ácido oxálico (pH 3.5) para pectinas procedentes de lima. Esto indica la importancia del tipo de ácido empleado en el proceso de extracción.

Respecto a los valores obtenidos para la longitud de las cadenas laterales son muy similares a los reportados por Kaya et al., (2014) en pectinas extraídas de lima (10.22) utilizando el método convencional usando ácido nítrico a pH = 1.6 y a una temperatura de 70°C durante siete horas.

Estos resultados indican que los usos de los ultrasonidos permiten mejorar el rendimiento de la extracción de pectinas manteniendo las características estructurales de las mismas.

4.4.5. Grado de metilesterificación (GME)

La funcionalidad de las pectinas como agentes gelificantes y estabilizantes en la industria alimentaria está íntimamente relacionada con su estructura química. Dependiendo del grado de metilesterificación (GME), las pectinas pueden clasificarse como pectinas de alto metoxilo (HMP) con GME mayor al 50% y de bajo metoxilo (LMP) con GME menor al 50% (Willats, Knox, & Mikkelsen, 2006).

Los resultados experimentales correspondientes al GME de las pectinas es de $92.3 \pm 0.9\%$. Por tanto, se podría clasificar a las pectinas extraídas como de alto metoxilo (HMP). Como se mencionó en el

apartado de introducción, son capaces de formar geles en elevadas concentraciones de azúcar (65% o superiores) y pH bajos; por lo tanto se utilizan en la industria para la elaboración de geles dulces, mermeladas o para la estabilización de emulsiones.

En los espectros FTIR (Figura 8) las bandas de particular importancia para la determinación del grado de metilesterificación son aquellas que aparecen alrededor de 1630 cm^{-1} y 1750 cm^{-1} y son indicadoras de grupos carboxilos libres y esterificados, los cuales son útiles para la identificación de pectinas de alto y bajo metoxilo (Manrique & Lajolo, 2002). Este espectro muestra un alargamiento pronunciado a 1625 cm^{-1} que corresponde a la banda de vibración de tensión simétrica del grupo COO^- , mientras que la banda que aparece a 1753 cm^{-1} corresponde a los grupos carbonilos de los grupos COOH y de los grupos acetilos (COOHCH_3) de la pectina. La presencia de ambas bandas confirma la presencia de pectina de alto metoxilo.

Por otro lado, la amplia y fuerte banda de absorción que aparece en torno a 3460 cm^{-1} corresponde a la vibración de $\text{O}-\text{H}$ debido a los enlaces inter e intramoleculares de hidrógeno localizados en la cadena principal del ácido galacturónico, y el pico a 2966 cm^{-1} puede ser causada por las vibraciones de estiramiento $\text{C}-\text{H}$ de los grupos $-\text{CH}_2$ en la pectina (Venzon et al., 2015). La capacidad emulsionante depende en parte de la cantidad de grupos hidrófobos. Cuanto mayor será la cantidad de dichos grupos en las pectinas, mayor es la capacidad emulsionante que tiene (Yang et al., 2018). Por lo tanto, en nuestro estudio, el pico de absorción a 1753 cm^{-1} indica que la pectina contiene un contenido relativamente alto de grupos hidrófobos.

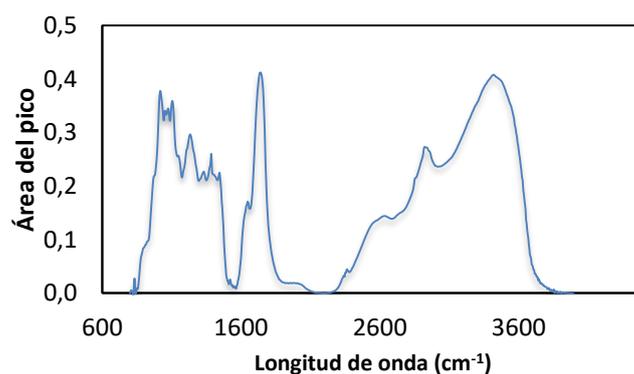


Figura 8. Espectro FTIR

4.5. Caracterización de las emulsiones

La estabilidad de una emulsión describe su capacidad para resistir cambios en sus propiedades con el tiempo. Esta depende de factores como tamaño de partícula, diferencia de densidades entre las fases, la viscosidad de la fase continua y de la emulsión, las cargas de las partículas, propiedades del tensoactivo, y las condiciones de almacenamiento (temperatura, agitación, vibración, dilución o evaporación).

4.5.1. Determinación de la viscosidad

A continuación, en la Tabla 5 se muestran los valores de viscosidad obtenidos para las emulsiones elaboradas con tween 20 y pectinas. Si bien se observan diferencias significativas en la viscosidad, ambas emulsiones presentan valores inferiores a 300 cp. Este aspecto es importante para prevenirla inclusión de aire en las microcápsulas durante el proceso de secado por spray drying (Gharsallaoui et al., 2007). Es importante destacar que el porcentaje de pectina que se puede adicionar a una emulsión

está entre 1-2%, esto se debe a que a concentraciones mayores se obtienen emulsiones con elevada viscosidad (Alba, Sagis, & Kontogiorgos, 2016).

Tabla 5. Viscosidad de las emulsiones elaboradas. Letras diferentes indican diferencias significativas $p < 0.05$

	Emulsión con Tween 20	Emulsión con pectinas
Viscosidad (cp)	30.0 ± 1.0 a	37.0 ± 2.6 b

La ventaja del uso de pectinas es que son capaces de estabilizar emulsiones a baja concentración pero eso conlleva un aumento de la viscosidad de la emulsión (Guo et al., 2014). Esto puede llegar a ser un problema al pasarlo por el spray drying ya que presenta un límite de viscosidad (300 cp) debido a que puede afectar a la capacidad de bombeo de la emulsión hacia el atomizador (Gómez-Cruz & Jiménez-Murgía, 2014). Además, una emulsión de alta viscosidad tiende a causar más agregación y deposición en la cámara de secado lo que hace que el secado sea dificultoso y se obtengan rendimientos más bajos.

4.5.2. Determinación del Creaming Index

Otro parámetro para determinar la estabilidad de las emulsiones es el creaming index, que se calculó mediante la Ecuación 11 en el apartado 3.6.2.2. y cuyos datos se muestran en la Tabla 6.

Se puede observar diferencias significativas en la estabilidad dependiendo el agente emulsificante utilizado. En la bibliografía no hay un consenso respecto al tiempo que se debe dejar reposar la emulsión para determinar este parámetro. En este trabajo se determinó el creaming index a las 15 h; las emulsiones con pectina presentaron un menor valor de creaming index que las emulsiones con tween 20 (tabla 6), lo cual indica que las emulsiones con pectinas son más estables en tiempos prolongados. Este hecho es importante para los objetivos de nuestro trabajo, ya que sería útil a nivel industrial poder tener emulsiones estables para su posterior procesado mediante spray drying.

Tabla 6. Creaming Index de las emulsiones elaboradas al cabo de 15h. Letras diferentes indican diferencias significativas $p < 0.05$

	Emulsión con Tween 20	Emulsión con pectinas
Creaming Index (%)	94.5 ± 0.3 a	68.1 ± 0.5 b

Los valores de creaming index (CI) obtenidos en este trabajo son similares a los bibliográficos. Maravić et al., (2019) determinaron los valores de CI a las 24 h en diferentes emulsiones, obteniendo valores desde 70 – 74% en emulsiones preparadas con fibra de remolacha, 86% en emulsiones preparadas con pectinas de remolacha y 90% en emulsiones con almidón modificado. En este estudio atribuyen principalmente la mayor estabilidad de las emulsiones elaboradas con fibra de remolacha al aumento de la viscosidad (ley de Stokes), lo cual concuerda con nuestros resultados, ya que la emulsión preparada con pectina presenta mayor viscosidad que la preparada con tween 20, y por lo tanto evita la migración de las gotas de aceite hacia la superficie. Además, la formación de una matriz compleja de polisacáridos, podrían actuar como estabilizadores estéricos para las gotitas de aceite, por este motivo la emulsión con pectina presenta un menor valor de CI.

4.5.3. Determinación del tamaño de partícula

El tamaño de las gotas de aceite de las emulsiones es un parámetro importante para medir su estabilidad, ya que el aumento en el tamaño medio de las partículas se deben a la floculación, la coalescencia o la maduración de Ostwald (McClements, 2007). Por lo tanto, la distribución del tamaño

de las gotas de aceite en las emulsiones se determinó para evaluar el efecto de las pectinas sobre la estabilidad de la emulsión.

En este trabajo se propone el uso de microscopía óptica y análisis de imagen para determinar el tamaño de las gotas de aceite presentes en las emulsiones. El análisis de imagen está siendo cada vez más utilizado, ya que permite obtener información cuantitativa.

Las fotografías del microscopio óptico se analizaron mediante el uso de una metodología de procesamiento de imagen automático, basada en el software ImageJ 1.8 (Creative commons license). El análisis de imagen consistió en el escalado, el cual permite relacionar una longitud conocida con un número de píxeles; seguidamente se realizó la transformación de la imagen a color en escala de grises mediante la opción "8 bits". Posteriormente se hizo una transformación binaria y se aplicó la opción "threshold" que delimita el perímetro de las gotas. Luego, mediante la opción "fill holes", se rellenaron los huecos de las gotas. El programa se configuró para que diera los resultados referentes al perímetro y al área de las gotas a partir de los cuales es posible calcular el diámetro (en este estudio se calculó a partir del perímetro). Por último, con la opción "analyze particles" se seleccionaron partículas con una esfericidad entre 0.6 y 1 para evitar medir otro tipo de impurezas que no correspondieran a las gotas de aceite (Figura 9).

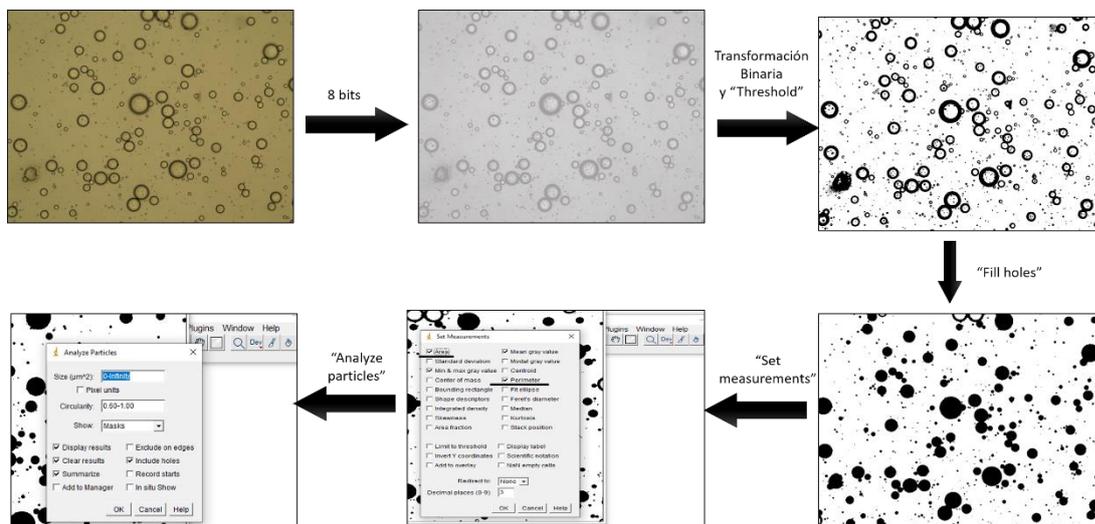


Figura 9. Transformación de la imagen en el programa ImageJ versión 1.80

En la figura 10 se presenta la distribución de tamaño de las gotas de aceite de la emulsión control y la emulsión con pectina. Ambas emulsiones mostraron una distribución de tamaño de gota de aceite inicial mono – modal con un diámetro de volumen mediano inicial (d_{50}) de $2.7 \mu\text{m}$ con un span de 0.4 para la emulsión control y de $3.6 \mu\text{m}$ con un span de 0.3 para la emulsión con pectina.

El tamaño de gotas de aceite puede variar en función del emulsificante utilizado. En este caso las partículas más pequeñas se observaron en la emulsión control elaborada con tween 20, resultados similares se describen en la bibliografía (Burapapadh et al., 2010).

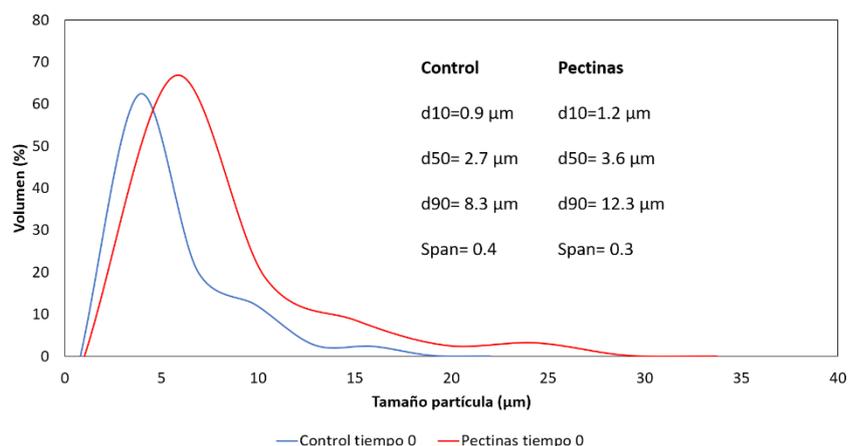


Figura 10. Distribución del tamaño de partícula a tiempo 0 para las emulsiones de tween 20 y pectinas

Seguidamente, en la Figura 11, se presentan los resultados de la distribución del tamaño de partícula de las emulsiones elaboradas con tween 20 y pectinas a diferentes tiempos (0, 1.5 y 3 y 72 h). Se puede observar que en ambas emulsiones, la distribución del tamaño de partícula prácticamente no varía en las primeras 3 h. Sin embargo, a las 72 h, la emulsión con tween 20 ha cambiado drásticamente y la curva de distribución de partículas se ha desplazado a la derecha, indicando un aumento del tamaño de las gotas de aceite ($t = 72 \text{ h}$, $d_{50} = 5.0 \text{ µm}$, $\text{span} = 0.4$).

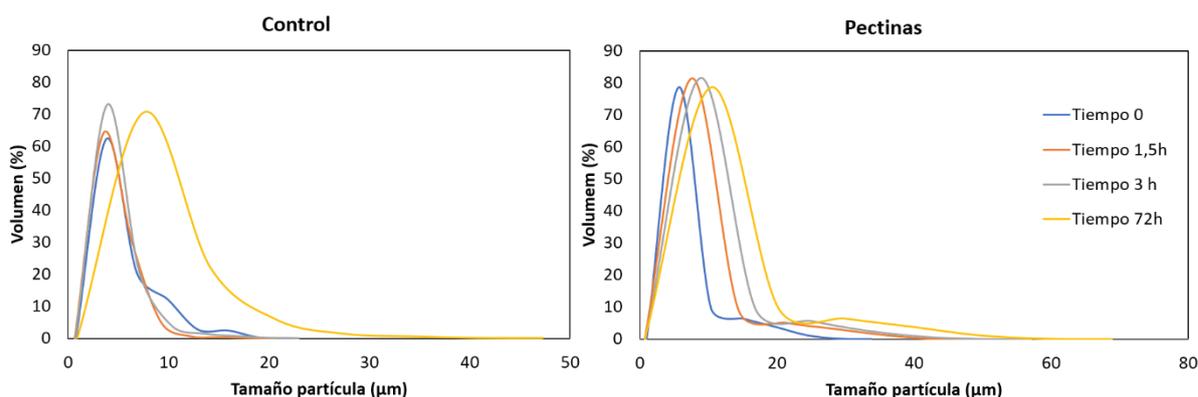


Figura 11. Distribución del tamaño de partícula de las emulsiones a diferentes tiempos

Por otro lado, la distribución del tamaño de partículas de la emulsión con pectina se mantiene estable hasta las 72 h, como se puede observar en la figura 11 ($t = 72 \text{ h}$, $d_{50} = 3.6 \text{ µm}$, $\text{span} = 0.2$). Este resultado indica que las emulsiones elaboradas con pectinas son más estables en el tiempo. Lo cual concuerda con los resultados obtenidos al determinar la estabilidad de las emulsiones mediante el creaming index. Este resultado se podría explicar por el hecho de que las pectinas confieren mayor viscosidad a las emulsiones y las estabilizan retardando el movimiento de las gotas de aceite. Por lo tanto, la presencia de pectinas de piel de lima evitó la coalescencia y la floculación de las gotitas de aceite, mejorando notablemente la estabilidad de la emulsión.

Para ilustrar este efecto, a continuación, se presentan en la figura 12 las fotos obtenidas con el microscopio óptico, a tiempo 0 y a las 72 h para ambas emulsiones. En la foto correspondiente a la emulsión control a $t = 0 \text{ h}$, todas las gotas parecían pequeñas y uniformes. Sin embargo, después de 72 h se pueden observar algunas gotas más grandes. Este no es el caso de la emulsión con pectina, ya que ambas las fotos tomadas a ambos tiempos (0 h y 72 h) son similares.

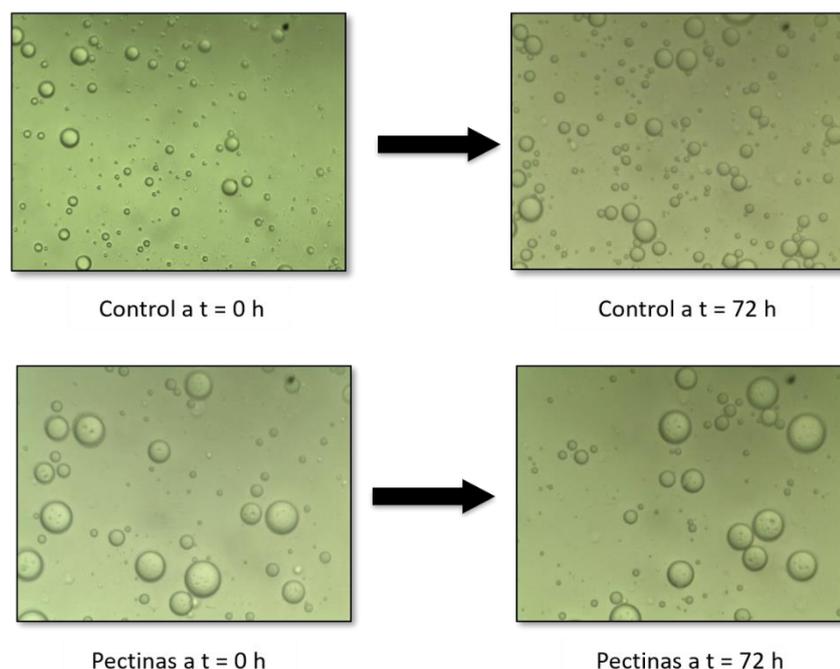


Figura 12. Imágenes obtenidas con el microscopio óptico de las gotas de aceite de la emulsión con pectinas y la emulsión con tween 20

Finalmente, se pudo comprobar que los resultados obtenidos de distribución de tamaño de partículas en emulsiones mediante la metodología por análisis de imagen son similares a los valores descritos en la bibliografía. Verkempinck et al., (2018) obtuvo un tamaño de partícula inicial de $d_{50} = 1.3 \mu\text{m}$ en las emulsiones elaboradas con tween y de $d_{50} = 1.61 \mu\text{m}$ en las de pectinas. Otros autores como Tonon, Grosso, & Hubinger (2011) obtuvieron tamaños medios de partícula que oscilaron entre 2.3 y $4.8 \mu\text{m}$ utilizando goma arábica como agente encapsulante.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvieron pectinas a partir de piel de lima mediante extracción asistida acústicamente, se caracterizaron las pectinas obtenidas y se evaluó la capacidad de las mismas para estabilizar emulsiones de aceite en agua comparándolas con un emulsificante comercial. A partir de los resultados obtenidos se han podido extraer las siguientes conclusiones:

- Las condiciones de extracción fueron adecuadas para la extracción de pectinas, obteniéndose un rendimiento de $71.3 \pm 6.3 \text{ g}/100 \text{ g}$ de CPL en b.s.
- Los ácidos urónicos fueron los monómeros más abundantes en las pectinas ($46.5 \pm 2.0\%$ molar), seguidos por la glucosa ($22.65 \pm 0.36\%$ molar), arabinosa ($16.6 \pm 1.1\%$ molar), galactosa ($4.95 \pm 0.46\%$ molar) y xylosa ($4.48 \pm 0.09\%$ molar). Otros monómeros como la ramnosa y manosa también fueron detectados, aunque en menor cantidad.
- La estructura de las pectinas estaba formada principalmente por cadenas de homogalacturonanos debido a la presencia mayoritaria de ácidos urónicos; la presencia de ramnosa, arabinosa y galactosa indicó que contenía cadenas laterales de ramnogalacturonanos.

- La aplicación de energía acústica provocó la extracción de polisacáridos no pécticos tales como hemicelulosa y/o celulosa. Esto explica que hayamos obtenido unos rendimientos tan elevados.
- El grado de metilesterificación indicó que eran pectinas de alto metoxilo y que por tanto, son capaces de estabilizar emulsiones.
- Al comparar las emulsiones obtenidas con un emulsificante comercial (tween 20) con las obtenidas con las pectinas extraídas, se observó que las segundas presentaron un valor significativamente ($p < 0.05$) más alto de viscosidad (30.0 ± 1.0 y 37.0 ± 2.6 para tween 20 y pectinas respectivamente).
- Las emulsiones preparadas con pectinas presentaron mayor estabilidad que las preparadas con tween 20 en términos de creaming index y variación en el tamaño de partícula con el tiempo. Probablemente debido al incremento de la viscosidad en la fase continua de la emulsión.

Por tanto, se puede concluir que es posible la revalorización de subproductos de lima como fuente de pectinas, ya que las mismas presentan características adecuadas para la formulación de emulsiones de aceite en agua debido a su capacidad de actuar como estabilizante.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Akhtar, M., Dickinson, E., Mazoyer, J., & Langendorff, V. (2002). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 16(4), 249–256.
- Alba, K., Sagis, L. M. C., & Kontogiorgos, V. (2016). Engineering of acidic O/W emulsions with pectin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145, 301–308.
- Aranberri, I., & Binks, B. P. (2006). Elaboracion Y Caracterización De Emulsiones Estabilizadas Por. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7(3), 211–231.
- Bajpai, P. (2016). Structure and Properties of Cellulose and Nanocellulose. *Pulp and Paper Industry*, 27–40.
- Bertolini, A. C., Siani, A. G., & Grosso, C. R. F. (2001). Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 780–785.
- Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., & Chemat, F. (2015). Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 72–79.
- Buckeridge, M. S. (2010). Seed Cell Wall Storage Polysaccharides: Models to Understand Cell Wall Biosynthesis and Degradation. *Plant Physiology*, 154(3), 1017–1023.
- Burapapadh, K., Kumpugdee-Vollrath, M., Chantasart, D., & Sriamornsak, P. (2010). Fabrication of pectin-based nanoemulsions loaded with itraconazole for pharmaceutical application. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 384–393.
- Caffall, K. H., & Mohnen, D. (2009). The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 344(14), 1879–1900.
- Casas-Orozco, D., Villa, A. L., Bustamante, F., & González, L. M. (2015). Process development and simulation of pectin extraction from orange peels. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 86–98.
- Ciriminna, R., Hernández, N. C., & Hernández, A. I. R. (2015). Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, (4), 132–153.
- Cummings, J. H., Mann, J. I., Nishida, C., & Vorster, H. H. (2009). Dietary fibre: an agreed definition. *The Lancet*, 373(9661), 365–366.

- De Oliveira, C. F., Giordani, D., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., & Marczak, L. D. F. (2015). Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 201–208.
- Derriche, R., & Berrahmoune, K. S. (2007). Valorisation of olive oil cake by extraction of hemicelluloses. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1149–1154.
- Drake, S. L., & Drake, M. A. (2011). Comparison of salty taste and time intensity of sea and land salts from around the world. *Journal of Sensory Studies*, 26(1), 25–34.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*, 73–109.
- Frascarelli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3), 413–424.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121.
- Gómez-Cruz, N. I., & Jiménez-Murgía, M. T. (2014). Metodos de secado de emulsiones en alimentarias. *Temas Selectos de Ingeniería En Alimentos*, 23–33.
- González-Centeno, M. R. (2013). Caracterización de los subproductos de la industria vitivinícola como fuente de fibra dietética y compuestos fenólicos. Uso de los ultrasonidos de potencia para la extracción de la fracción fenólica.
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: Grape pomaces and stems. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1580–1586.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 330–347.
- Guo, X., Zhao, W., Pang, X., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2014). Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 35, 217–225.
- Hernandez Sanchez, M. D. R., Cuvelier, M. E., & Turchiuli, C. (2015). Design of liquid emulsions to structure spray dried particles. *Journal of Food Engineering*, 167, 99–105.
- Holck, J., Hotchkiss, A. T., Meyer, A. S., Mikkelsen, J. D., & Rastall, R. A. (2014). Production and Bioactivity of Pectic Oligosaccharides from Fruit and Vegetable Biomass. *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity*, 9781118426(October 2017), 76–87.
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 140, 59–65.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835.
- Janiszewska, E., Jedlińska, A., Witrowa-Rajchert, D., 2015. Effect of homogenization parameters on selected physical properties of lemon aroma powder. *Food Bioprod. Process.* 94, 405–413.
- Kaya, M., Sousa, A. G., Crépeau, M. J., Sørensen, S. O., & Ralet, M. C. (2014). Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*, 114(6), 1319–1326.
- Lee, Y. K., Ahn, S. Il, & Kwak, H. S. (2013). Optimizing microencapsulation of peanut sprout extract by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 307–314.
- Londoño, J. L., Sierra, J., Álvarez, R., Duque, A. M. R., & Passaro, C. (2015). Aprovechamiento de los subproductos carnicos, (March 2015), 350.
- Manrique, G. D., & Lajolo, F. M. (2002). FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 25(1), 99–107.

- Maravić, N., Šereš, Z., Nikolić, I., Dokić, P., Kertész, S., Dokić, L., 2019. Emulsion stabilizing capacity of sugar beet fibers compared to sugar beet pectin and octenyl succinate modified maltodextrin in the production of O/W emulsions: individual and combined impact. *LWT* 108, 392–399.
- May, C. D. (1990). Industrial pectins: Sources, production and applications". *Carbohydrate Polymers. J. Ind. Appl. Pectin*, 12(1), 79–99.
- McClements. (2005). *Food Emulsions. Principles, practices and techniques*.
- McClements, D. J. (2007). Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649.
- Moneim, A., Sulieman, E., Khodari, K. M. Y., & Salih, Z. A. (2013). Extraction of Pectin from Lemon and Orange Fruits Peels and Its Utilization in Jam Making. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 3(5), 81–84.
- Müller-Maatsch, J., Bencivenni, M., Caligiani, A., Tedeschi, T., Bruggeman, G., Bosch, M., Petrusan, J., Droogenbroeck, B., Elst, K., Sforza, S. (2016). Pectin content and composition from different food waste streams in memory of Anna Surribas, scientist and friend. *Food Chemistry*, 201, 37–45.
- Nakagawa, K., Surassmo, S., Min, S. G., & Choi, M. J. (2011). Dispersibility of freeze-dried poly(epsilon-caprolactone) nanocapsules stabilized by gelatin and the effect of freezing. *Journal of Food Engineering*, 102(2), 177–188.
- Ochoa-Villarreal, M., Aispuro-Hernandez, E., Vargas-Arispuro, I., & ngel, M. (2012). Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives. *Polymerization*, (May 2014).
- Panchev, I. N., Kirtchev, N. A., & Kratchanov, C. (1989). Kinetic model of pectin extraction. *Carbohydrate Polymers*, 11(3), 193–204.
- Patsilinos, A., Ragno, R., Carradori, S., Petralito, S., & Cesa, S. (2018). Carotenoid content of Goji berries: CIELAB, HPLC-DAD analyses and quantitative correlation. *Food Chemistry*, 268(June), 49–56.
- Pérez, M. D. M., Ghinea, R., Rivas, M. J., Yebra, A., Ionescu, A. M., Paravina, R. D., & Herrera, L. J. (2016). Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dental Materials*, 32(3), 461–467.
- Pinelo, M., Sineiro, J., & Núñez, M. J. (2006). Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, 77(1), 57–63.
- Quintanilla-Carvajal, M. X., Camacho-Díaz, B. H., Meraz-Torres, L. S., Chanona-Pérez, J. J., Alamilla-Beltrán, L., Jimenez-Aparicio, A., & Gutiérrez-López, G. F. (2009). Nanoencapsulation: A new trend in food engineering processing. *Food Engineering Reviews*, 2(1), 39–50.
- Robins, M. M. (2000). Emulsions - creaming phenomena*, 5, 265–272.
- Rodríguez-González, V. M., Femenia, A., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Candelas-Cadillo, M. G., ... Rosselló, C. (2011). Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1675–1683.
- Seixas, F. L., Fukuda, D. L., Turbiani, F. R. B., Garcia, P. S., Petkowicz, C. L. d. O., Jagadevan, S., & Gimenes, M. L. (2014). Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. *Food Hydrocolloids*, 38, 186–192.
- Shamaei, S., Seiedlou, S.S., Aghbashlo, M., Tsotsas, E., Kharaghani, A., 2017. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39, 101–112.
- Sivakumar, M., & Pandit, A. B. (2001). Ultrasound enhanced degradation of Rhodamine B: Optimization with power density. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 233–240.
- Sosa, N., Schebor, C., & Pérez, O. E. (2014). Encapsulation of citral in formulations containing sucrose or trehalose: Emulsions properties and stability. *Food and Bioprocess Processing*, 92(3), 266–274.
- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn University International Journal*, 3(1–2), 206–228.

- Sturzoiu, A., Stroescu, M., Guzun, A. S., & Dobre, T. (2011). Empirical models applied for kinetics extraction of β -carotene from *Rosa canina*. *Revista de Chimie*, *62*(3), 344–348.
- Thakur, B. R., Singh, R. K., & Handa, A. K. (1997). Chemistry and Uses of Pectin - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *37*(1), 47–73.
- Venzon, S. S., Canteri, M. H. G., Granato, D., Demczuk, B., Maciel, G. M., Stafussa, A. P., & Haminiuk, C. W. I. (2015). Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(7), 4102–4112.
- Verkempinck, S. H. E., Salvia-Trujillo, L., Van Loey, A. M., Kyomugasho, C., Grauwet, T., Hendrickx, M. E., Denis, S. (2018). Emulsion stabilizing properties of citrus pectin and its interactions with conventional emulsifiers in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, *85*(March), 144–157.
- Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Liu, D. (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, *61*, 730–739.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Liu, D. (2015). Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry*, *178*, 106–114.
- Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, *17*(3), 97–104.
- Yang, X., Nisar, T., Hou, Y., Gou, X., Sun, L., & Guo, Y. (2018). Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier. *Food Hydrocolloids*, *85*, 30–38.
- Yapo, B. M. (2009). Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(4), 1572–1578.
- Yapo, B. M. (2011). Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins - A new hypothetical model. *Carbohydrate Polymers*, *86*(2), 373–385.
- Zanella, K., & Taranto, O. P. (2015). Influence of the drying operating conditions on the chemical characteristics of the citric acid extracted pectins from “pera” sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) albedo and flavedo. *Journal of Food Engineering*, *166*, 111–118.