



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A
PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (*theobroma cacao l.*) Y ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN (*citrus limon*) PARA EL USO EN
ALIMENTOS”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR:

LUIS CARLOS CÓRDOVA COX

Riobamba – Ecuador

2021



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A
PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (*theobroma cacao l.*) Y ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN (*citrus limon*) PARA EL USO EN
ALIMENTOS”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: LUIS CARLOS CÓRDOVA COX

DIRECTORA: ING. LINDA MARIUXI FLORES FIALLOS, MSc

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, Luis Carlos Córdova Cox

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Luis Carlos Córdova Cox, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 17 de septiembre de 2021



Luis Carlos Córdova Cox

150078433-3

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo Investigación, **OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (*theobroma cacao L.*) Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (*citrus limon*) PARA EL USO EN ALIMENTOS**, realizado por el señor: **LUIS CARLOS CÓRDOVA COX**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Segundo Hugo Calderon
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**SEGUNDO HUGO
CALDERON .**

2021/09/17

Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos, MSc
**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

**LINDA
MARIUXI
FLORES
FIALLOS**

Firmado digitalmente por:LINDA
MARIUXI FLORES FIALLOS
DN: cn=LINDA MARIUXI FLORES
FIALLOS o=EC o=SECURITY DATA
S.A. 1 ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION
Motivo:Soy el autor de este
documento
Ubicación:
Fecha:2021-11-09 12:30:05:00

2021/09/17

Bq. Cristina Nataly Villegas Freire
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

**CRISTINA
NATALY
VILLEGA
S FREIRE**

Firmado digitalmente
por:CRISTINA NATALY
VILLEGAS FREIRE
DN: cn=CRISTINA NATALY
VILLEGAS FREIRE o=EC
o=SECURITY DATA S.A. 1
ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION
Motivo:Soy el autor de este
documento
Ubicación:
Fecha:2021-11-10 11:05:05:00

2021/09/17

DEDICATORIA

El presente trabajo principalmente va dedicado a Dios por guiar mi camino y haberme dado las fuerzas para culminar con mi carrera universitaria; a mis padres Luis y Myriam, por depositar en mi toda su confianza, haberme inculcado valores de superación y perseverancia para nunca desfallecer en el camino hacia el cumplimiento de mis objetivos; a mis hermanos Erick y Cynthia por ser un ejemplo de lucha y constancia y haberme regocijado con su cariño y apoyo para poder superarme como persona y profesional.

Luis

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Ing. Linda Flores Fiallos y Bq. Cristina Villegas Freire, por la orientación y asesoramiento brindado durante el desarrollo del presente trabajo de investigación, facilitando los medios y conocimientos necesarios para la culminación del mismo.

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, especialmente a la Facultad de Ciencias, carrera de Ingeniería Química, por darme la oportunidad de alcanzar mi desarrollo profesional; al grupo de investigación GIADE por permitirme ser parte del proyecto de investigación “OBTENCIÓN DE BIOPLÁSTICOS A PARTIR DE LOS PRODUCTOS AGRÍCOLAS DEL ECUADOR” para así poder aportar con investigaciones que ayuden a solucionar los problemas ambientales que perjudican al planeta.

Luis

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	2
1.1 Antecedentes de la investigación.....	2
1.2 Marco teórico.....	4
1.2.1 Residuos agrícolas.....	4
1.2.2 Cacao.....	4
1.2.2.1 Especies más comunes de cacao.....	5
1.2.2.2 Desechos del sector cacaotero.....	7
1.2.3 Pectina.....	8
1.2.3.1 Propiedades fisicoquímicas de las pectinas.....	8
1.2.3.2 Clasificación de las pectinas.....	9
1.2.3.3 Fuentes de pectina convencionales y no convencionales.....	10
1.2.3.4 Métodos de extracción de pectina.....	11
1.2.3.5 Aplicaciones de la pectina.....	12
1.2.4 Aceites esenciales.....	13
1.2.4.1 Aceite esencial de limón (Citrus limon).....	13
1.2.4.2 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón (Citrus limon).....	13
1.2.5 Biopelículas.....	14
1.2.5.1 Importancia de las biopelículas.....	14
1.2.5.2 Clasificación de las biopelículas.....	15
1.2.5.3 Composición de las biopelículas.....	15
1.2.5.4 Propiedades de las biopelículas.....	16
1.2.5.5 Factores que influyen en las propiedades de las biopelículas.....	17
1.2.5.6 Aplicaciones de las biopelículas.....	18
1.2.6 Recubrimientos comestibles.....	19

1.2.7	<i>Diferencia entre biopelículas y recubrimientos comestibles</i>	19
-------	---	----

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	20
2.1	Objetivos	20
2.1.1	<i>General</i>	20
2.1.2	<i>Específicos</i>	20
2.2	Hipótesis y especificación de variables	20
2.2.1	<i>Hipótesis general</i>	20
2.2.2	<i>Hipótesis específicas</i>	20
2.2.3	<i>Identificación de variables</i>	21
2.2.4	<i>Operacionalización de variables</i>	22
2.2.5	<i>Matriz de consistencia</i>	24
2.3	Tipo y diseño de investigación	26
2.3.1	<i>Tipo de investigación</i>	26
2.3.1.1	<i>Según el método de investigación</i>	26
2.3.1.2	<i>Según el objeto de investigación</i>	26
2.3.1.3	<i>Según el nivel de profundización en el objeto de estudio</i>	26
2.3.1.4	<i>Según la manipulación de variables</i>	26
2.3.1.5	<i>Según el tipo de inferencia</i>	26
2.3.1.6	<i>Según el período temporal</i>	27
2.3.1.7	<i>Según la condición de estudio</i>	27
2.3.2	<i>Diseño experimental de la investigación</i>	27
2.3.2.1	<i>Diseño factorial 2^k para la obtención de pectina</i>	27
2.3.2.2	<i>Diseño factorial 2^k para la elaboración de las biopelículas</i>	28
2.4	Unidad de análisis	28
2.5	Población de estudio	29
2.6	Tamaño de muestra	29
2.7	Selección de la muestra	29
2.8	Técnica de recolección de datos	29
2.8.1	<i>Información de recolección de datos</i>	29
2.8.2	<i>Materiales y reactivos</i>	30
2.8.2.1	<i>Materiales</i>	30
2.8.2.2	<i>Reactivos</i>	30
2.8.3	<i>Técnicas para la obtención de la biopelícula</i>	31
2.8.3.1	<i>Extracción de pectina</i>	31

2.8.3.2	<i>Elaboración de la biopelícula</i>	33
2.8.4	<i>Ensayos de caracterización de la pectina</i>	33
2.8.4.1	<i>Determinación del porcentaje de humedad de la pectina</i>	33
2.8.4.2	<i>Determinación del porcentaje de cenizas de la pectina</i>	34
2.8.4.3	<i>Caracterización fisicoquímica de la pectina</i>	34
2.8.4.3.1	<i>Determinación del peso equivalente y de la acidez libre de la pectina</i>	34
2.8.4.3.2	<i>Determinación del porcentaje de metoxilo de la pectina</i>	35
2.8.4.3.3	<i>Determinación del grado de esterificación de la pectina</i>	36
2.8.4.3.4	<i>Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina</i>	36
2.8.4.4	<i>Determinación de la solubilidad de la pectina</i>	37
2.8.4.5	<i>Determinación del pH de la pectina</i>	37
2.8.5	<i>Ensayos de caracterización de la biopelícula</i>	37
2.8.5.1	<i>Determinación del porcentaje de humedad de la biopelícula</i>	37
2.8.5.2	<i>Determinación del porcentaje de solubilidad de la biopelícula</i>	38
2.8.5.3	<i>Determinación de propiedades mecánicas de tracción de la biopelícula</i>	38
2.8.5.4	<i>Determinación del grado de transmisión de vapor de agua</i>	39
2.8.5.5	<i>Pruebas microbiológicas de las biopelículas</i>	39
2.8.5.6	<i>Ensayo de biodegradabilidad de las biopelículas</i>	40

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	41
3.1	Análisis y Discusión de Resultados	41
3.1.1	<i>Análisis físico de las mazorcas de cacao</i>	41
3.1.2	<i>Análisis del rendimiento de la pectina de la cáscara de cacao</i>	42
3.1.3	<i>Análisis de la varianza (ANOVA) para el rendimiento de la obtención de la pectina</i>	44
3.1.4	<i>Prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey para el rendimiento de la obtención de la pectina</i>	45
3.1.5	<i>Análisis sensorial de la pectina de la cáscara de cacao (Theobroma cacao L.)</i> ..	46
3.1.6	<i>Caracterización fisicoquímica de la pectina de la cáscara de cacao</i>	47
3.1.7	<i>Análisis del diseño experimental para la formulación de las biopelículas</i>	55
3.1.8	<i>Resultados de humedad de las biopelículas</i>	56
3.1.9	<i>Resultados del porcentaje de solubilidad de las biopelículas</i>	58
3.1.10	<i>Resultados de las propiedades mecánicas de las biopelículas</i>	59
3.1.11	<i>Análisis de la permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas</i>	63
3.1.12	<i>Análisis de la biodegradabilidad de las biopelículas</i>	64

3.1.12.1	<i>Análisis de biodegradabilidad de las biopelículas en suelo (vía anaerobia)</i>	64
3.1.12.2	<i>Análisis de biodegradabilidad mediante vía aerobia</i>	66
3.1.12.3	<i>Análisis de biodegradabilidad en agua</i>	69
3.1.13	<i>Análisis microbiológico de las biopelículas</i>	70
3.2	Prueba de Hipótesis	71
3.2.1	<i>Hipótesis 1</i>	71
3.2.2	<i>Hipótesis 2</i>	72
3.2.3	<i>Hipótesis 3</i>	72
3.2.4	<i>Hipótesis 4</i>	72
	CONCLUSIONES	73
	RECOMENDACIONES	75
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Taxonomía del cacao	5
Tabla 2-1:	Composición química de la cáscara de la mazorca de cacao	7
Tabla 3-1:	Clasificación de las pectinas	10
Tabla 1-2:	Variables dependientes e independientes	21
Tabla 2-2:	Operacionalización de variables en la extracción de pectina y obtención de la biopelícula.....	22
Tabla 3-2:	Matriz de consistencia.....	24
Tabla 4-2:	Cálculo del porcentaje de humedad de la pectina.....	33
Tabla 5-2:	Cálculo del porcentaje de cenizas de la pectina	34
Tabla 6-2:	Cálculo del peso equivalente y la acidez libre de la pectina	35
Tabla 7-2:	Cálculo del porcentaje de metoxilo de la pectina	35
Tabla 8-2:	Cálculo del grado de esterificación de la pectina	36
Tabla 9-2:	Cálculo del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina	36
Tabla 10-2:	Determinación de la solubilidad de la pectina.....	37
Tabla 11-2:	Determinación del pH de la pectina	37
Tabla 12-2:	Cálculo del porcentaje de humedad de la biopelícula.....	37
Tabla 13-2:	Cálculo del porcentaje de solubilidad de la biopelícula	38
Tabla 14-2:	Cálculo de la resistencia a la tracción	38
Tabla 15-2:	Cálculo de la permeabilidad del vapor de agua.....	39
Tabla 16-2:	Determinación de las propiedades microbiológicas de la biopelícula	39
Tabla 17-2:	Cálculo del porcentaje de biodegradabilidad.....	40
Tabla 1-3:	Análisis físico de la mazorca de cacao	41
Tabla 2-3:	Resultados del rendimiento de la pectina obtenida de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	42
Tabla 3-3:	Análisis de la varianza (ANOVA) para el rendimiento de la obtención de pectina	45
Tabla 4-3:	Resultado del valor DSH de la pectina de la cáscara de cacao	46
Tabla 5-3:	Resultados de la prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey para el rendimiento de la pectina	46
Tabla 6-3:	Características sensoriales de la pectina.....	47
Tabla 7-3:	Resultados del porcentaje de humedad de la pectina.....	48
Tabla 8-3:	Resultados del porcentaje de cenizas de la pectina	48
Tabla 9-3:	Resultados del volumen utilizado en la titulación para el cálculo de las propiedades fisicoquímicas	49

Tabla 10-3:	Resultado de las propiedades fisicoquímicas titulables de la pectina de la cáscara de cacao.....	50
Tabla 11-3:	Resultados de la solubilidad y pH de la pectina de la cáscara de cacao	53
Tabla 12-3:	Resumen de las características fisicoquímicas de la pectina	54
Tabla 13-3:	Variabales del proceso de formulación de las biopelículas	55
Tabla 14-3:	Ensayos preliminares para determinar la formación de las biopelículas.....	55
Tabla 15-3:	Resultados del porcentaje de humedad de las biopelículas	56
Tabla 16-3:	Resultados del porcentaje de solubilidad de las biopelículas	58
Tabla 17-3:	Propiedades mecánicas de las biopelículas	59
Tabla 18-3:	Datos para permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas.....	63
Tabla 19-3:	Resultados de la medición de peso para permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas	63
Tabla 20-3:	Resultados para la permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas	63
Tabla 21-3:	Datos del área de las biopelículas para biodegradabilidad en suelo	64
Tabla 22-3:	Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas en suelo.....	64
Tabla 23-3:	Datos de peso de las biopelículas para biodegradabilidad aerobia	66
Tabla 24-3:	Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia).....	67
Tabla 25-3:	Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas en agua.....	69
Tabla 26-3:	Resultados de las pruebas microbiológicas	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Cacao criollo.....	6
Figura 2-1.	Cacao forastero	6
Figura 3-1.	Cacao trinitario	7
Figura 4-1.	Estructura molecular básica de la pectina	8
Figura 1-3:	Pectina obtenida de la cáscara de cacao en cada uno de los tratamientos	44
Figura 2-3:	Pectina extraída en el tratamiento 2.....	47
Figura 3-3:	Determinación del porcentaje de humedad y cenizas de la pectina	54
Figura 4-3:	Titulación para determinación de propiedades fisicoquímicas de la pectina..	54
Figura 5-3:	Determinación de la solubilidad y pH de la pectina.....	55
Figura 6-3:	Ensayos de formulación de las biopelículas	56
Figura 7-3:	Caracterización del porcentaje de humedad de la biopelícula.....	58
Figura 8-3:	Caracterización de la solubilidad de la biopelícula	59
Figura 8-3:	Medición del espesor de la biopelícula	60
Figura 9-3:	Pruebas mecánicas de las biopelículas.....	62
Figura 10-3:	Permeabilidad al vapor de agua	64
Figura 11-3:	Biodegradabilidad de las biopelículas (vía anaerobia).....	66
Figura 12-3:	Biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia)	68
Figura 13-3:	Biodegradabilidad de las biopelículas en agua	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2:	Diseño factorial 2^k para la obtención de pectina de la cáscara de cacao.....	27
Gráfico 2-2:	Diseño factorial $2k$ para la elaboración de las biopelículas.....	28
Gráfico 3-2:	Diagrama de flujo de obtención de polvo de la cáscara de cacao.....	31
Gráfico 4-2:	Diagrama de flujo de la extracción de pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica.....	32
Gráfico 5-2:	Diagrama experimental para la formulación de las biopelículas.....	33
Gráfico 1-3:	Análisis del rendimiento de la pectina.....	43
Gráfico 2-3:	Porcentaje de humedad de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	48
Gráfico 3-3:	Porcentaje de cenizas de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	49
Gráfico 4-3:	Porcentaje de metoxilos de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	51
Gráfico 5-3:	Porcentaje de esterificación de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	51
Gráfico 6-3:	Peso equivalente de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	51
Gráfico 7-3:	Acidez libre de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	52
Gráfico 8-3:	Porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	53
Gráfico 9-3:	Solubilidad de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	53
Gráfico 10-3:	Resultados de pH de la pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	54
Gráfico 11-3:	Porcentaje de humedad de las biopelículas.....	57
Gráfico 12-3:	Porcentaje de solubilidad de las biopelículas.....	58
Gráfico 13-3:	Espesor de las biopelículas.....	60
Gráfico 14-3:	Resultado de la tensión de las biopelículas.....	61
Gráfico 15-3:	Análisis de la carga y esfuerzo máximo de las biopelículas.....	61
Gráfico 16-3:	Análisis de la elongación de las biopelículas.....	62
Gráfico 17-3:	Permeabilidad al vapor de agua.....	63
Gráfico 18-3:	Tasa de biodegradabilidad de las biopelículas (vía anaerobia).....	65
Gráfico 19-3:	Tasa de biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia).....	67
Gráfico 20-3:	Biodegradabilidad de las biopelículas en agua.....	69
Gráfico 21-3:	Cantidad de pectina promedio obtenida.....	71

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1-2:	Porcentaje de Rendimiento.....	28
Ecuación 2-2:	Porcentaje de humedad de la pectina.....	34
Ecuación 3-2:	Porcentaje de cenizas de la pectina.....	34
Ecuación 4-2:	Peso equivalente de la pectina.....	35
Ecuación 5-2:	Acidez libre de la pectina	35
Ecuación 6-2:	Porcentaje de metoxilo de la pectina	35
Ecuación 7-2:	Porcentaje de grado de esterificación de la pectina	36
Ecuación 8-2:	Porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina	36
Ecuación 9-2:	Porcentaje de humedad de la biopelícula.....	38
Ecuación 10-2:	Porcentaje de solubilidad de la biopelícula.....	38
Ecuación 11-2:	Resistencia a la tracción de la biopelícula	38
Ecuación 12-2:	Permeabilidad al vapor de agua.....	39
Ecuación 13-2:	Porcentaje de biodegradabilidad.....	40

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Proceso de obtención del polvo de la cáscara de cacao
- ANEXO B:** Proceso de obtención de pectina de la cáscara de cacao
- ANEXO C:** Caracterización de la pectina
- ANEXO D:** Obtención de las biopelículas
- ANEXO E:** Caracterización de las biopelículas
- ANEXO F:** Pruebas de biodegradabilidad de las biopelículas
- ANEXO G:** Ensayos de tracción de las biopelículas
- ANEXO H:** Resultados de las pruebas de tracción
- ANEXO I:** Resultados de las pruebas microbiológicas

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A:	Área
CG:	Concentración de la glicerina
cm:	Centímetros
CP:	Concentración de la pectina
ΔP_v:	Diferencia de presión
DSH:	Diferencia significativa honesta
e:	Espesor
g:	Gramos
h:	Horas
meq:	Miliequivalente
mg:	Miligramo
min:	Minuto
ml:	Mililitro
mm:	Milímetro
MPa:	Mega pascal
Mse:	Cuadrado del error medio
N:	Normalidad
n:	tamaño de muestra de cada uno de los grupos
Pa:	Pascal
ppm:	Partes por millón
PVA:	Permeabilidad al vapor de agua
R:	Repetición
s:	Segundo
T:	Temperatura
t:	Tiempo
T_{1,...,4}:	Tratamientos
TP:	Tratamiento de la película
V:	Volumen
vta:	pendiente de la velocidad de transferencia de vapor de agua

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue obtener y caracterizar una biopelícula a partir de residuos de cacao (*Theobroma cacao L.*) y aceite esencial de limón (*Citrus limon*) para el uso en alimentos, para lo cual se obtuvo pectina por el método de hidrólisis ácida y precipitación alcohólica, mediante 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, utilizando un diseño factorial 2^k , variando el pH (2 y 3) y tipo de ácido (ácido clorhídrico y ácido cítrico), obteniendo mayor rendimiento en el tratamiento 2 (T₂) de 10,60% con un promedio de 3,71 g de pectina, posteriormente se realizó el análisis sensorial y fisicoquímico de la pectina obtenida. Luego se procedió a formular la biopelícula, mediante el mismo diseño estadístico, utilizando dos variables: porcentaje de pectina (1% y 3%) y porcentaje de glicerina (0,75% y 1,50%); manteniendo constante el agua destilada y el aditivo antimicrobiano (aceite esencial de limón), logrando un total de 4 tratamientos con 4 repeticiones; la mezcla se gelatinizó a una temperatura de 55°C por 24 horas, y como resultado se obtuvo que el tratamiento 4 (T₄) presentó películas translúcidas de color marrón, muy estables y fáciles de desmoldar con un grosor entre 0,10 y 0,17 mm; a continuación se realizó la caracterización físico-mecánica, teniendo resultados promedio de humedad (13,21%), porcentaje de solubilidad (80,70%) y porcentaje de elongación (41,67%); además mediante ensayos de biodegradabilidad se determinó que transcurridos 30 días las biopelículas logran degradarse en 41,03% en compost, 9,68% al ambiente y en un 100% en agua, finalmente mediante análisis microbiológicos se evidenció que la adición de aceite esencial de limón mitiga la presencia de microorganismos. En función a sus características, la biopelícula puede utilizarse como recubrimiento de alimentos destinados a cocción por su alta solubilidad. Es recomendable tamizar bien la pectina al formular las películas para evitar grumos.

Palabras clave: <BIOPELÍCULA>, <CACAO (*Theobroma cacao L.*)>, <ACEITE ESENCIAL>, <LIMÓN (*Citrus limon*)>, <HIDRÓLISIS ÁCIDA>, <PRECIPITACIÓN ALCOHÓLICA>, <ANTIMICROBIANO>, <BIODEGRADABILIDAD>, <COMPOST>

1363-DBRAI-UTP-2021



Firmado electrónicamente por:
**RAFAEL INTY
SALTO**

ABSTRACT

The aim of this work to obtain and characterize a biofilm from cocoa residues (*Theobroma cacao L.*) and lemon essential oil (*Citrus limon*) to be used in food, to this end, pectin was obtained by the acid hydrolysis method and alcoholic precipitation by means of 4 treatments with 4 repetitions each, using a 2k factorial design, varying the pH (2 and 3) and acid type (hydrochloric acid and citric acid), obtaining higher yield in treatment 2 (T2) 10.60% with an average of 3.71 g of pectin, subsequently the sensory and physicochemical analysis of the pectin obtained was carried out. Then the biofilm was formulated by using the same statistical design with two variables: percentage of pectin (1% and 3%) and glycerin (0.75% and 1.50%); keeping the distilled water and the antimicrobial additive (lemon essential oil) constant, accomplishing a total of 4 treatments with 4 repetitions; The mixture was gelatinized at 55°C for 24 hours, and as a result, treatment 4 (T4) presented very stable and easy to unmold translucent brown films, with a thickness between 0.10 and 0.17 mm. ; After that, the physical-mechanical characterization was carried out, having average results of humidity (13.21%), solubility (80.70%) and elongation (41.67%); In addition, through biodegradability tests it was determined that after 30 days the biofilms is degraded 41.03% in compost, 9.68% in the environment and 100% in water, finally through microbiological analysis it was evidenced that the addition of essential oil of lemon mitigates the presence of microorganisms. Depending on its characteristics, biofilm can be used as a coating for foods to be cooked, due to its high solubility. It is advisable to sift the pectin well when formulating the films to prevent lumps.

Keywords: <BIOFILM>, <CACAO (*Theobroma cacao L.*)>, <ESSENTIAL OIL>, <LEMON (*Citrus limon*)>, <ACID HYDROLYSIS>, <ALCOHOLIC PRECIPITATION>, <COMPOST>

INTRODUCCIÓN

Actualmente el planeta se ve afectado por una sobreproducción de materiales plásticos, estimando que es suficiente el plástico existente para satisfacer las necesidades futuras de la humanidad, sin embargo, el desperdicio de este material al no ser reutilizado provoca que se abandone en calidad de desechos tóxicos alrededor de todo el planeta, generando contaminación ambiental, daño a la biodiversidad y a la salud en general de la humanidad (Jiménez 2016, p.1).

De acuerdo con datos del programa de la ONU para el medio ambiente (PNUMA o UNEP según sus siglas en inglés), cada año se descargan en los océanos alrededor de 13 millones de toneladas de plásticos, incluidas micropartículas que entran en la cadena alimenticia, y afectan la salud de todos los seres vivos del planeta. Las proyecciones actuales muestran que la producción mundial de plástico se disparará en las próximas décadas, llegando a la asombrosa cifra de 619 millones de toneladas en 2030 (UNEP 2018).

En la industria de alimentos se utiliza una variedad de empaques de un solo uso, de los cuales un amplio número son películas plásticas para envolver alimentos con la finalidad de prevenir el deterioro, alargar la vida de anaquel y proteger al producto de daños mecánicos, facilitando su distribución y comercialización. Los materiales más utilizados para elaborar películas de empaques son polímeros a base de petroquímicos por sus ventajas, disponibilidad y bajo costo. Sin embargo, estos materiales no son biodegradables y ocasionan un serio problema ambiental por la acumulación de desechos sólidos. Debido a esto en las últimas décadas, se han realizados estudios en el campo de películas y recubrimientos biodegradables (Sánchez Aldana et al. 2015, p.17). Los empaques a base de biopolímeros son una alternativa al uso de empaques sintéticos, ayudando así a mitigar la contaminación producida por plásticos convencionales de origen petroquímico. Donde los biopolímeros usados para producir películas biodegradables son proteínas, lípidos y carbohidratos (gomas, almidón, derivados de la celulosa y pectinas) o la combinación entre estos (Sánchez Aldana et al. 2015, p.17).

Hoy en día, existen estudios realizados para el aprovechamiento de residuos agroindustriales del cacao, tanto en el campo alimenticio, farmacéutico, agrícola, entre otros, pero en el campo de la biotecnología sobre la obtención de biopolímeros a partir de esta fuente, existen muy pocas investigaciones (Aguilar y Espin 2019, p.4). En el sector cacaotero se produce un elevado porcentaje de residuos, que corresponde a la cáscara, misma que contiene pectina, por lo cual se considera materia prima idónea para obtener películas plásticas biodegradables y amigables con el ambiente.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Antecedentes de la investigación

Las películas biodegradables han sido de gran importancia en los últimos años ya que, debido a la gran generación de residuos plásticos, han surgido como una alternativa para reducir el volumen de plásticos de origen petroquímico que provocan contaminación ambiental (Chapuel y Reyes 2019, p.15).

En la investigación: **EXTRACCIÓN DE PECTINAS A PARTIR DE LOS SUBPRODUCTOS DEL BENEFICIO DEL CACAO**, realizado por Betancourt y Llano (2009), evaluaron la posibilidad de obtener pectinas a partir de los subproductos del proceso del beneficio del cacao. Mediante un diseño de experimentos factorial 2k con punto medio que se llevó a cabo en el laboratorio de desarrollo de productos del departamento de ingeniería de procesos de la universidad EAFIT, evaluaron variables de respuesta rendimiento y grado de metilación para la pectina obtenida a partir de la mazorca del cacao, los factores del diseño fueron tiempo de cocción (Tc), tiempo de hidrólisis (Th) o extracción y pH de la mezcla antes de la hidrólisis (con ácido clorhídrico al 10%) cuyos niveles fueron 20 min y 30 min, 20 min y 40 min y 1.5 y 2.5 respectivamente. La pectina obtenida fue caracterizada, con base en el poder de gelación, contenido de cenizas y espectroscopia infrarroja. Estas pruebas definieron la pectina obtenida como una pectina “ultra rapid set” (Betancourt y Llano 2009, p.1).

De acuerdo con Aguilar, S. & Espín, L. en su trabajo “**PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIOPOLÍMERO OBTENIDO A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DEL CACAO (CCN-51)**” donde se evaluó los excedentes de cacao como única fuente de carbono en el medio de producción (F1) y se valoró el efecto de dos azúcares en este medio, F2 (sorbitol:excedentes = 1:1) y F3 (glicerol:excedentes = 1:1), para la producción del biopolímero. El biopolímero fue caracterizado mediante análisis como: microscopía electrónica de barrido (SEM), calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopia infrarroja (FTIR), tracción, humedad, calor y dimensionamiento de las membranas. Mediante análisis estadístico se determinó que las variables evaluadas no presentan diferencias significativas, y concluyen que el cacao tipo CCN-15, es un residuo orgánico que puede ser aprovechado para la producción de un biopolímero (Aguilar y Espin 2019).

En cuanto a películas comestibles los autores Sánchez D., Contreras J., Nevárez G. & Aguilar C. en el artículo “**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES A BASE DE EXTRACTOS PÉCTICOS Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN MEXICANO**” publicado en el volumen 13 de la revista Journal of Food en el año 2015, elaboraron y caracterizaron películas

biodegradables a base de extractos pécticos de bagazo o pomaza de limón, incorporados con glicerol y aceite esencial de limón. Mediante un diseño central compuesto obtuvieron 20 películas por el método de casting. La película seleccionada a base de extracto péctico de bagazo de limón (1,0% pectina, 075% glicerol, 500 mg/kg aceite esencial de limón) presento una fuerza a la punción de $1.48 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ y permeabilidad al vapor de agua de $5.17 \times 10^{-11} \text{ g}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$. La película seleccionada se caracterizó en cuanto a humedad, color, espesor, FTIR-ATR, TGA y SEM (Sánchez Aldana et al. 2015, p.17).

En el artículo “PELÍCULAS BIODEGRADABLES A PARTIR DE RESIDUOS DE CÍTRICOS: PROPUESTA DE EMPAQUES ACTIVOS” elaborado por Arévalo K., Alemán M., Rojas M. & Morales L. en el Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, elaboraron películas, mediante la técnica de casting o vaciado en placa, a base de residuos de la industria cítrica, pectina, alcohol polivinílico y benzoato de sodio para estudiar el efecto de éste, así como del grosor en las propiedades físico-mecánicas y de barrera de dichas películas. Los empaques presentaron valores de resistencia a la tensión que fluctuaron entre 5.81 y 11.89 MPa, afectándose significativamente con la adición del conservador, ya que dicha propiedad se incrementó con su concentración, en las películas elaboradas con cáscara de limón; el grosor presentó el mismo efecto que el conservador, es decir a mayor grosor, mayor resistencia a la tensión, para las películas elaboradas. La elongación fluctuó entre 3 y 5.9%, incrementándose los valores conforme el incremento del grosor. Los valores de permeabilidad al vapor de agua de las películas variaron de $1.61 \text{ E}^{-05} \text{ g}/\text{hmm}^2$ a $5.69 \text{ E}^{-05} \text{ g}/\text{hmm}^2$, encontrándose un efecto por el grosor. Donde concluyen que fue posible la incorporación de residuos agroindustriales, como matriz polimérica, para la elaboración de empaques activos, los cuales mostraron propiedades físico-mecánicas y de barrera, similares a las de otras películas biodegradables, lo que las hace potencialmente útiles para su aplicación en la industria del empaque de alimentos y particularmente como empaques activos (Arévalo et al. 2010, p.124).

En el trabajo presentado por Del Aguila D. & Zegarra D. “EXTRACCIÓN DE PECTINA POR HIDRÓLISIS ÁCIDA Y PRECIPITACIÓN ALCOHÓLICA A PARTIR DE LAS CÁSCARAS DE CACAO HÍBRIDO CCN51 (*Theobroma cacao* L.) PARA LA FABRICACIÓN DE UN PROTOTIPO DE EMPAQUE ALIMENTARIO, PUCALLPA, REGIÓN UCAYALI 2015” en la Carrera Profesional de Ingeniería Industrial de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía, determinaron las características de la pectina extraída por hidrólisis ácida con ácido cítrico y precipitación de las mismas con alcohol al 96% v/v, con la finalidad de efectuar el proceso de obtención de pectina con insumos accesible y disponibles en los laboratorios; evaluaron tres rangos de pH (3,0; 4,0 y 5,0), un tiempo y temperatura de hidrólisis de 80 minutos y 90°C respectivamente, para lo cual utilizaron un diseño estadístico DCA con arreglo factorial 3×3 con 3 repeticiones; en cuanto a la determinación de características fisicoquímicas: Rendimiento promedio de 4,10%; Grado de esterificación

promedio de 42,36%; Sólidos solubles 46,52; Tiempo de gelificación de 41,5 minutos; Acidez libre de 5,47 meq carboxilos libre/g pectina; Cenizas 3,34% y Humedad de 14,23%. Con la pectina obtenida elaboraron nueve prototipos de empaques alimentarios, los cuales fueron analizados estadísticamente mediante un DCA con arreglo factorial de 3x2 con 3 repeticiones, resultando como el mejor el T₁ (concentración de pectina del 3% y glicerina del 1,50%), tuvo una aceptación de “Me gusta moderadamente” que correspondió a un puntaje promedio de 4 para los atributos de color, sabor y texturas (muestra de papaya) y olor (muestra de piña) (Del Aguila y Zegarra 2016).

1.2 Marco teórico

1.2.1 Residuos agrícolas

Desde el punto de vista de la producción, la fracción no incluida en la cosecha se puede considerar como residuo agrícola, teniendo en cuenta tanto aquellas partes que normalmente no se pueden utilizar en un sentido puramente comercial como aquellas que no alcanzan los límites calidad exigidos, ya sea por razones intrínsecas o extrínsecas (enfermedades, déficit nutricional, etc.) (Vargas et al. 2014, p.19). Los residuos vegetales son los más habituales en la producción agrícola, ya que corresponden a la poda de plantas; la extracción de las mismas cuando la cosecha sólo tiene en cuenta los frutos o partes de la planta; frutos que sufren daños y no se pueden comercializar; deshierbe; y otro tipo de actividad complementaria al desarrollo del cultivo que conduce a la destrucción de plantas (Chávez Porras y Rodríguez González 2016, p.101). De acuerdo con Riera, Maldonado y Palma (2018, p.234) en la industria del cacao se desperdician grandes cantidades de materiales significativamente diferenciados, los mismos que corresponden a la cáscara y el mucílago.

1.2.2 Cacao

El cacao es una especie arbórea nativa de la cuenca del Amazonas, perteneciente a la familia Sterculiáceas; es una planta perenne que cuando llega a su etapa desarrollo, produce durante unos 30 años y alcanza una altura de alrededor de 4 metros (Lutheran World Relief 2013, p.10). Fue el botánico suizo Carlos Linneo, quien le dio su nombre científico en 1753, de *Theobroma cacao L.* (Perea 2019, p.20).

Tabla 1-1: Taxonomía del cacao

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>Theobroma cacao L.</i>

Fuente: (Del Aguila y Zegarra 2016, p.29).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Se divide en dos considerables grupos: El cacao Fino y de Aroma, dentro del cual están las variedades más conocidas como: Criollo y Trinitario y; El Cacao Común, Básico o a Granel, principalmente con la variedad conocida como Forastero. Más del 90% del cacao producido en el mundo cada año puede considerarse como cacao básico o granel, y procede en su mayoría de África y Brasil, con la variedad forastero. El cacao fino y de aroma tiene un perfil de aroma y sabor único, que le dan precisamente ese nombre, y es la primera opción para los fabricantes de chocolates; sin embargo, solo representa el 5% de la producción mundial. El cacao criollo se cultiva desde México hasta Brasil y en Indonesia, Papúa Nueva Guinea y Sri Lanka; el forastero, de cuyas variedades se produce el cacao básico para generar híbridos es de mayor productividad y calidad, se cultiva en las costas del Golfo de Guinea en África Occidental y América Central y Suramérica; y el trinitario, cruce entre el criollo y forastero, se cultiva en las Antillas (Del Aguila y Zegarra 2016, pp.28-29).

En Ecuador el cacao se produce en 14 provincias. Alrededor del 80% de la producción se concentra en la cuenca del río Guayas, por la fertilidad de los suelos. Sin embargo, existen otras partes del país que ofrecen un cacao diferente con otras cualidades, por ejemplo, la provincia de Napo, que produce volúmenes relativamente menores y no figura como provincia productora de cacao, pero tiene un cacao diferente. El Napo ofrece un gran potencial para la producción de cacao Fino y de Aroma. En los últimos años, en las provincias de Napo, Orellana y Sucumbíos, la superficie sembrada ha aumentado en al menos 14.000 hectáreas de cacao, de las cuales el 75% corresponde al tipo Nacional. Por lo cual, se podría decir que el potencial productivo que puede ofrecer esta región es muy superior al volumen actual (Vassallo 2015, p.49).

1.2.2.1 Especies más comunes de cacao

– Criollos

Proviene originalmente de Centroamérica, Colombia y Venezuela. Se caracteriza porque sus frutos poseen una cáscara suave, de esta variedad se produce el cacao fino o de mejor calidad. Este tipo presenta un cotiledón de color entre marfil pardusco y castaño muy claro, con un olor de cacao dulce y un delicado aroma característico (Del Aguila y Zegarra 2016, p.31).



Figura 1-1. Cacao criollo

Fuente: (Calderon 2017, p.4).

– Forasteros

Es procedente de Sudamérica y se cultiva en las regiones cacaoteras de África y Brasil. Se diferencia porque sus frutos presentan una cáscara dura y más o menos lisa. Sus semillas o almendras son de color morado y sabor amargo (Del Aguila y Zegarra 2016, p.31).



Figura 2-1. Cacao forastero

Fuente: (Nizama 2015, p.13).

– Trinitarios

Deriva de un cruce entre el cacao Criollo y Forastero. Sus mazorcas generalmente son de muchas formas y colores; las semillas son más grandes que las del cacao criollo y forastero; las plantas son fuertes, de tronco grueso y hojas grandes. Actualmente, la mayoría de las plantaciones de cacao en el mundo son trinitarios (Del Aguila y Zegarra 2016, p.32).



Figura 3-1. Cacao trinitario

Fuente: (Lutheran World Relief 2013, p.11).

1.2.2.2 Desechos del sector cacaotero

Económicamente en el sector cacaotero sólo se aprovecha la semilla, de manera que la pulpa y las cáscaras se destinan en terrenos cercanos a las plantaciones de cacao, generando la aparición de malos olores, deterioro del paisaje, y también de problemas medio ambientes como la contaminación de suelos y fuentes de agua adyacentes en época lluviosa por las escorrentías del agua lluvia que se generan. Los desechos que principalmente se generan en la zona cacaotera corresponde a la cáscara, que además se considera fuente de propagación del hongo *Phytophthora spp*; con el fin de dar una solución a los problemas que generan este tipo de desechos, varios estudios han demostrado que las cáscaras de cacao son fuente de polímeros útiles, desde espumas de poliuretano para uso hortícola hasta pectinas (Franco Castillo et al. 2010, p.50).

Tabla 2-1: Composición química de la cáscara de la mazorca de cacao

Componente	% p/p
Humedad	85,000
Proteína	1,070
Minerales	1,410
Grasas	0,020
Fibras	5,450
Carbohidratos	7,050
Nitrógeno (N)	0,171
Fosforo (P)	0,026
Potasio (K)	0,545
Pectinas	0,890

Fuente: (Ortiz Valbuena y Álvarez León 2015, p.68).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

1.2.3 Pectina

Las pectinas se encuentran dentro de los principales componentes de la pared celular en los vegetales y además son una parte importante de los constituyentes característicos de los frutos cítricos. Estas macromoléculas son polisacáridos con una alta capacidad hidrofílica, ya que pueden absorber agua hasta quinientas veces su propio peso. La pectina hace referencia a sustancias pécticas, que pueden tomar coloraciones blancas, amarillas, grises claros o marrones claros (Pilligua 2017, p.11).

Las pectinas son polisacáridos de alto peso molecular que forman polímeros de unidades de ácido D-galacturónico unidas por enlaces glicosídicos $\alpha(1-4)$, cuyos grupos carboxilo están parcialmente esterificados con metanol y en algunos casos con etanol, las cadenas de la pectina están interrumpidas por unidades de L-ramnosa unidas por enlaces glicosídicos $\alpha(1-2)$, aunque también se pueden encontrar unidades de galactosa, arabinosa, glucosa y xilosa, generalmente en formas de cadenas laterales cortas (Rengifo y Macías 2019, p.7).

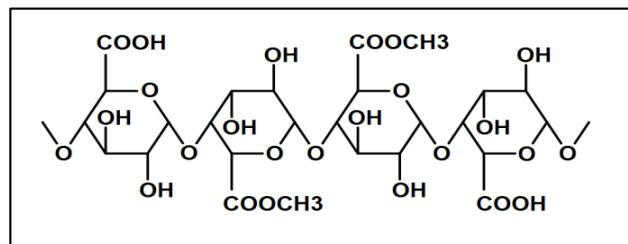


Figura 4-1. Estructura molecular básica de la pectina

Fuente: (Zegada Franco 2015, p.66).

1.2.3.1 Propiedades fisicoquímicas de las pectinas

Como polímeros del ácido galacturónico, las pectinas tienen muchas propiedades físicas y químicas únicas, debidas principalmente al grupo carboxílico presente en las unidades de la cadena (Calderon 2017, p.23).

– Solubilidad

El agua es el mejor solvente para las pectinas, aunque también es soluble en formamida, dimetilformamida y glicerina. La pectina es insoluble en solventes orgánicos y en soluciones de detergentes cuaternarios, polímeros, proteínas y cationes polivalentes; estos agentes se emplean para precipitar la pectina de las soluciones después de un proceso de hidrólisis por tratamiento de materia prima. La pectina debe estar completamente disuelta para que sea utilizada en su totalidad

y no forme geles irregulares, y se debe comenzar a disolver sin permitir la formación de grumos los cuales son difíciles de romper después de formados (Ferreira 2007, pp.19-20).

– Viscosidad

Las soluciones de pectina exhiben un comportamiento de fluido no Newtoniano, pseudoplástico característico de la mayoría de polisacáridos. La viscosidad depende del grado de polimerización de la pectina, del pH de la solución, del peso molecular, de la presencia de electrolitos, de la temperatura y de la concentración de la pectina (Calderon 2017, pp.23-24).

– Pureza

En cuanto a la pureza, la pectina debe tener un mínimo del 78% de ácido anhidrouónico, así mismo debe estar libre de humedad y cenizas (Del Aguila y Zegarra 2016, p.37).

– Acidez

La pectina es un ácido con pH aproximado de 3,5; un porcentaje alto de grupos ácidos disociados respecto a los no disociados hace a la pectina más hidrófila, por lo tanto, la tendencia a gelificar aumenta considerablemente al bajar el pH. Esto se hace especialmente evidente en pectinas de alto metoxilo las cuales requieren normalmente un pH por debajo de 3,5 para gelificar (Cobeñas y Guerrero 2018, p.21).

– Reología

Las dispersiones de pectina se comportan de manera muy similar que la de otros biopolímeros en términos de comportamiento de velocidad de deformación de viscosidad aparente. Los geles de pectina poseen las propiedades de los líquidos viscosos y las propiedades de los sólidos elásticos (viscoelasticidad). De ahí que sus propiedades reológicas son expresadas en términos de módulos elásticos y viscosidades newtonianas (Del Aguila y Zegarra 2016, p.39).

1.2.3.2 Clasificación de las pectinas

De acuerdo con Nizama (2015, p.31) las pectinas se pueden clasificar según su contenido de metoxilos; siendo estas, pectinas con un contenido alto de metoxilos y pectinas con un contenido bajo de metoxilos, además por su grado de gelificación que pueden ser de gelificación rápida y lenta. Desde el punto de vista de la tecnología alimentaria la propiedad más importante de las

pectinas es su aptitud para formar geles; por lo que concierne a la pectina en sí misma, el carácter del gel depende esencialmente de dos factores: longitud de la molécula péctica y su grado de metilación (Del Aguila y Zegarra 2016, p.43).

Tabla 3-1: Clasificación de las pectinas

Clasificación de las pectinas	
Según el grado de metoxilación	Pectinas de alto metoxilo: contienen entre el 50% y 80% de los grupos carboxílicos esterificados con metoxilo, lo cual le permite ser soluble en agua.
	Pectinas de bajo metoxilo: son aquellas que están esterificadas con un porcentaje menor al 50% por grupos metoxilos; tienen la propiedad de formar gel cuyo soporte está constituido por una estructura reticular de pectinatos de calcio.
Según el grado de gelificación	Pectinas de gelificación rápida: tienen un grado de metilación de por lo menos el 70%, que forman geles con adición de azúcar y ácidos a pH de 3,0 – 3,4; y a temperaturas superiores a los 85°C. Esta pectina produce el espesamiento o gelificación al poco tiempo de ser agregada.
	Pectinas de gelificación lenta: tienen un grado de metilación entre el 50 – 70%, forman geles con azúcar y ácido a pH óptimo entre 2,8 – 3,2 y su gelificación puede empezar a temperaturas menores a 85°C.

Fuente:(Rengifo y Macías 2019, p.8) (Del Aguila y Zegarra 2016, pp.41-44).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

1.2.3.3 Fuentes de pectina convencionales y no convencionales

La pectina se encuentra presente en todos los tejidos vegetales, aunque por su contenido solo algunas variedades son adecuadas para su extracción comercial (Zegada Franco 2015, p.65).

a) Fuentes convencionales

Los residuos de manzana y las cortezas de cítricos son las materias primas tradicionalmente usadas para la extracción industrial de pectinas. Ambos materiales contienen altas cantidades de sustancias pécticas y están disponibles en abundancia como residuos de la producción de jugo. Sin embargo, estos frutos producen pectinas ligeramente diferentes, lo cual hace que la una o la otra sea más adecuada para aplicaciones específicas, aunque ambas tienen buen reconocimiento de deseabilidad y propiedades comercialmente atractivas. Los orujos de manzana secos

generalmente contienen entre un 15 a 20% de pectina, mientras que las cortezas de cítricos secos rinden de un 30 a un 35% de pectina (Nizama 2015, p.32).

b) Fuentes no convencionales

De acuerdo con Nizama (2015, p.33) existe un interés general en el uso de desperdicios de productos obtenidos de bioindustrias, para minimizar los problemas ambientales y aprovechar las grandes cantidades de biomasa para elaborar productos con valor agregado. Por tanto, la búsqueda de otras fuentes de pectina, ha atraído el interés en los últimos años, por lo cual existen algunos estudios con las siguientes fuentes no convencionales:

- Orujo de oliva, pulpa de tomate, desperdicios del almidón de papa y semillas de linaza.
- Frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus*), de uchuva (*Physalis peruviana*) y residuos de la industrialización de piña (*Ananas comosus*)
- Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa L.*)
- Cáscara de plátano (*Musa AAB*)
- Auyama (*Cucurbita maxima*)
- Cáscara de cacao (*Theobroma cacao*)
- Remolacha azucarera
- Mango (*Mangifera indica*)
- Guayaba (*Psidium guajava*)
- Soya (*Glycine max*)
- Girasol (*Helianthus annuus*)
- Cáscara de banano (*Musa sapientum*)
- Morera (*Morus alba L.*)
- Melocotón (*Prunus persica*)

1.2.3.4 Métodos de extracción de pectina

A escala industrial el más utilizado es la hidrólisis ácida. Por esta razón se prueba este método con algunas modificaciones hasta obtener un proceso sencillo y acorde a nuestro medio, así se trabaja utilizando varios ácidos como el sulfúrico, clorhídrico, tartárico y cítrico. La ventaja principal de la hidrólisis es su alto rendimiento en comparación con otros métodos de extracción que poseen buena calidad, pero bajo rendimiento, aparte de ser de muy alto costo de producción (Pilligua 2017, p.15).

– Hidrólisis ácida

Este es el método más común, el cual consiste en someter al sustrato a una cocción en medio ácido, posterior filtración y purificación, con lo cual se logra separar la pectina presente del resto de compuesto de las cáscaras, para luego secarla y molerla hasta tener un fino polvo listo para comercializarlo. Generalmente se proponen valores de temperatura para la extracción de pectina con HCl (ácido clorhídrico) que varían de 85 a 90°C, pH de 1,6 a 2,0 y tiempos de extracción de 30 a 60 minutos (Pilligua 2017, p.15).

– Acción enzimática

Las pectinas pueden separarse de forma natural de los tejidos vegetales denominada protopectina cuando la fruta está extremadamente madura y cuando las enzimas actúan naturalmente sobre éstas. Las enzimas pécticas que intervienen en este proceso son las desesterificantes (pectina estereasas) y las desdepolimerizantes; donde, las primeras catalizan la hidrólisis de los ésteres metílicos del ácido poligalacturónico, liberando metanol al medio y convirtiendo las pectinas en ácidos pécticos y las segundas son un grupo más numeroso de enzimas capaces de desdoblar las cadenas de ácido poligalacturónico de diverso grado de esterificación de unidades de menor tamaño (Pilligua 2017, p.16).

Este proceso aporta significativos beneficios en la industria alimentaria por los efectos fisicoquímicos u organolépticos que produce, tales como la disminución de la viscosidad, mejora de la filtrabilidad, disminución de la tendencia a la cristalización, clarificación y estabilización de los líquidos con vistas a su conservación, insolubilización de macromoléculas por formación de coágulos, mejora en la fermentabilidad mejora de la estabilidad bacteriológica entre otros (Rengifo y Macías 2019, p.10).

– Extracción asistida por microondas

Las condiciones de extracción empleadas en el método convencional provocan la degradación térmica de proteínas, lo cual genera pérdidas de cantidad y calidad de la pectina extraída. Debido a esto, se han establecido nuevos métodos en donde la pectina puede extraerse en menores tiempos y con mejor calidad y rendimiento. Tal es el caso de la extracción asistida con microondas, que ha mostrado obtener mayor rendimiento y calidad de pectinas en menor tiempo (Cobeñas y Guerrero 2018, pp.25-26).

1.2.3.5 Aplicaciones de la pectina

Las pectinas tienen una variedad de aplicaciones en diferentes industrias, por ejemplo, en la industria alimentaria es utilizada para elaborar compotas y mermeladas, asimismo se emplea como gelificante de pudines, estabilizante de emulsiones y suspensiones, agente estabilizante en helados y soluciones para recubrir carnes y salchichas enlatadas. En la industria farmacéutica se utilizan por su capacidad de protección y regulación del sistema gastrointestinal, su acción desintoxicante, anti colesterol, inmunológica, antihemorrágica, anti cancerígena y cicatrizante. La pectina también se utiliza en la elaboración de películas para cubrir papel dándole suavidad. La mezcla de pectina y alcohol polivinílico, es usada en la fabricación de películas biodegradables, reemplazando los plásticos derivados del petróleo, las cuales se pueden reciclar y son permitidas para formas farmacéuticas de liberación prolongada (Lama Guadalupe 2018, p.28).

1.2.4 Aceites esenciales

Un aceite esencial es un líquido aromático de aspecto fluido o espeso y color variable según las plantas de las que estos son extraídos, son producidos por células especiales que se encuentran en las hojas, como en las flores, la madera, las raíces o semillas (Epinel 2020, p.19). Los aceites esenciales son los responsables de la mayoría de los olores y sabores de las plantas, fueron utilizados desde la antigüedad por el hombre y actualmente tiene una gran importancia en la industria cosmética, alimentaria como en los condimentos, saborizantes y conservantes y en la industria farmacéutica como antimicrobiano u antifúngicos (Sánchez y Valdez 2019, p.17). De acuerdo con Rodríguez (2011, p.161) la aplicación de aceites esenciales de mandarina, cidra, limón y lima, aumentaron la vida útil de la ensalada de frutas y redujeron la carga microbiana, sin alterar las características sensoriales del producto.

1.2.4.1 Aceite esencial de limón (*Citrus limon*)

El aceite esencial de limón (*Citrus limon*) es uno de los aceites más ricos en vitaminas, contiene sobre todo vitamina C y caroteno, que es una forma de vitamina A. Contiene también terpenos (limoneno, felandreno, pineno, sesquiterpenos, citrol, citronelol, linalol), acetatos de linalol y geraniol, aldehídos, etc. (Epinel 2020, p.24).

1.2.4.2 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón (*Citrus limon*)

De acuerdo con Scalvenzi et al. (2016, p.48) el aceite esencial de limón (*Citrus limon*) logra inhibir en un 70% la actividad fúngica del hongo *C. cladosporioides* y en un 72% *F. solani*, ambos a la concentración de 500 µL/mL. Además Epinel (2020, p.18) comprobó en su investigación que el aceite esencial *Citrus limon* tiene un efecto antibacteriano ante la bacteria *E. coli*, que son Gram

negativas y en *S. aureus* que son bacterias Gram positivas; aunque en su estudio indica que el efecto antibacteriano es menor en *E. coli* ante *S. aureus*. En un estudio realizado por Hilvay (2015, p.58) para la conservación de la carne cuy se demostró que los aceites esenciales de limón, albahaca y orégano permitieron el almacenamiento de hasta 40 días conservando el color y olor característico de la carne, además que mitigaron el crecimiento de microorganismos (*Staphylococcus aureus*).

1.2.5 Biopelículas

De acuerdo con datos preliminares se conoce que las primeras biopelículas eran derivadas de materiales orgánicos, aunque en sus inicios no fueron llamadas biopelículas. El pionero en crear una biopelícula, fue John Wesley Hyatt Jr. en 1869, sintetizando láminas plásticas a base de celulosa de algodón como un sustituto del marfil. Después de unos años se creó el celuloide, utilizado todavía para la fabricación de películas fotográficas y de filmación. Además de la celulosa también deriva el celofán, fabricado en 1912 y actualmente utilizado (Humpiri 2018, pp.28-29).

Las biopelículas se pueden definir como una capa delgada o varias de un material que puede ser consumido por los seres vivos y a su vez pueden actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos (Escobar 2020, p.24). De acuerdo con González Cuello, Morón Alcázar y Taron Dunoyer (2016, p.186) las biopelículas son elaboradas a base de compuestos totalmente biodegradables, con la capacidad de ser utilizadas para el empaque de varias matrices alimentarias. Además, las biopelículas pueden disminuir el daño mecánico que se produce durante el acondicionamiento del producto, esto debido a la formación de una capa continua y sólida sobre la superficie del alimento. Se forman mediante la técnica casting, la misma que consiste en verter la solución sobre un molde, para seguido se esto evaporar el solvente a una temperatura controlada para formar una película rígida (Fonseca 2020, p.10).

De acuerdo con mundoPLAST (2020) el instituto alemán nova-Institute mediante un estudio que realizó en el 2019, indica que la producción de biopelículas en ese año creció un 3% interanual hasta los 3,8 millones de toneladas. Cantidad que refleja el 1% del total de polímeros producidos a base de fuentes fósiles.

1.2.5.1 Importancia de las biopelículas

A través de diversos estudios que se han realizado en la actualidad se conoce que las biopelículas pueden emitir hasta un 70% menos de carbono que los plásticos que se derivan del petróleo; donde la producción de películas biodegradables contribuiría a reducir la dependencia del petróleo, mostrándose como un avance tangible hacia una economía basada en la sostenibilidad. Además,

se conoce que su biodegradación es considerablemente más rápida; propiedad que de ser necesario se podría regular (Humpiri 2018, p.29).

1.2.5.2 Clasificación de las biopelículas

Las biopelículas también conocidas como polímeros renovables, se pueden clasificar de acuerdo a dos tipos: los que se originan directamente de organismos vivos y los que necesitan ser sintetizados pero su procedencia es de un recurso renovable. Dentro del primer grupo se incluye a las proteínas (colágeno, queratina, gelatina, gluten de maíz o de trigo, proteínas de leche o de soya); polisacáridos (almidón, derivados de la celulosa, quitosano, alginatos, carragenatos y pectinas) y lípidos (ceras, ácidos grasos y monoglicéridos). En el segundo, grupo está el ácido poliláctico (PLA), y ciertos poliésteres (polihidroxicarbonatos o PHA) metabolizados por bacterias. El PLA es un biopolímero sintetizado a partir de productos agrícolas con un alto contenido en almidón como el maíz, trigo arroz, entre otros (Monroy 2019, pp.25-26).

1.2.5.3 Composición de las biopelículas

Los principales componentes de las biopelículas pueden ser polisacáridos, proteína y lípidos, solos o combinados, además en las formulaciones se incluyen plastificantes y gelificantes con la finalidad de ayudar a mejorar las propiedades finales de la película (Fonseca 2020, p.10).

a) Polisacáridos

Entre los polisacáridos que se utilizan para formar biopelículas se incluye la celulosa, pectinas, almidón, almidones modificados químicamente, alginatos, quitosano, carragenina y gomas vegetales (Fonseca 2020, p.11).

b) Plastificantes

Los plastificantes son sustancias que dentro de sus propiedades presenta un punto de fusión alto y volatilidad relativamente baja, se usan en la elaboración de películas o recubrimientos a base de polímeros con el fin de ablandarlos, otorgándoles así mayor flexibilidad. Dentro de los plastificantes más utilizados están el glicerol, sorbitol o una mezcla de estos dos añadidas en la solución filmogénica (Sánchez y Valdez 2019, p.17). El glicerol o propan 1,2,3-triol ($C_3H_8O_3$) es el plastificante más conocido, el mismo que se utiliza con el propósito de reducir la naturaleza frágil, ayudando así a mejorar la flexibilidad de la película, pero se puede ver afectado por la permeabilidad de vapor de agua y gases, debido a que es muy hidrófilo e higroscópico, posee bajo peso

molecular, es buen modificador de interacciones entre macromoléculas y también interviene en el aumento de la movilidad de las cadenas de los polímeros (Chapuel y Reyes 2019, p.32).

c) Aditivos

Dentro de los aditivos más importantes están los conservantes y antioxidantes:

– Conservantes

Son sustancias que se utilizan como aditivos, se añaden a los alimentos con la finalidad de conservarlos y minimizar la presencia de agentes patógenos (bacterias, levaduras y mohos). Los conservantes que destacan son: sorbato de potasio y ácido acético (Chapuel y Reyes 2019, pp.33-34). Además en la actualidad se ha implementado el uso de aceites esenciales como antimicrobianos, cuyos mayores constituyentes son los terpenoides (citral, citroneal, geranio, nerol y linalol) puesto que su actividad antifúngica está asociada al contenido de fenoles monoterpenos que contienen (Fonseca 2020, p.12).

– Antioxidantes

Son sustancias que se utilizan como aditivos alimentarios, que tienen la propiedad de prolongar la vida útil de los alimentos, evitando que se deterioren a causa de la oxidación. Dentro de los principales antioxidantes se encuentran: ácido cítrico, ácido ascórbico y metabisulfito de sodio (Chapuel y Reyes 2019, pp.35-36).

1.2.5.4 *Propiedades de las biopelículas*

a) Propiedades físicas más representativas:

- Color: entre los aspectos que influyen directamente en el color de las películas están considerados el tipo y la concentración del material que se agrega. Las características de color y la opacidad se las relaciona con el aspecto visual de la película. Mientras que la transparencia y opacidad del polímero es debido a la morfología o la estructura química que está relacionada con el peso molecular del material (Escobar 2020, p.31).
- Espesor: es una propiedad importante puesto que a medida que aumenta el espesor, la transparencia de masa se eleva y esto a su vez provoca que la presión parcial del vapor de agua de equilibrio aumente en la parte inferior de la cubierta (Chapuel y Reyes 2019, p.39).

- Solubilidad en agua: cuando las biopelículas son utilizadas como medio para preservar alimentos, la solubilidad en agua es un factor muy importante a considerar puesto que determinara la biodegradabilidad de la misma; sí el fin es el almacenamiento, una baja solubilidad es lo más adecuado, sin embargo si el objetivo es el uso de recubrimientos en alimentos destinados a cocción es favorable un valor de solubilidad alto, por ende esta propiedad es de suma importancia al momento de evaluar la aplicación correcta de las biopelículas (Anchundia, Santacruz y Coloma 2016, p.398).

b) Propiedades mecánicas más representativa:

- Elongación a la ruptura: es la capacidad que posee una película para flexionarse o estirarse, hasta que se rompa (Chapuel y Reyes 2019, p.40).
- Resistencia a la tracción: generalmente se mide aplicando un esfuerzo a una probeta, y se define como la medida de la capacidad de resistencia de un polímero a los esfuerzos de estiramiento (García 2015, p.27).

c) Propiedad funcional más representativa:

Permeabilidad al vapor de agua: esta propiedad permite medir la cantidad de vapor de agua que se transfiere a un material, la misma que depende de la parte hidrofóbica de los elementos que conforman la película o recubrimiento comestible; por medio del movimiento del vapor del agua en los polímeros, se puede constatar el traspaso de humedad desde el producto al medio ambiente, lo más pausado posible (Chapuel y Reyes 2019, p.40).

d) Propiedad biodegradable más representativa:

Biodegradabilidad: se define como la capacidad que tiene un material para descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua y componente orgánicos o biomasa, cuyo principal mecanismo es la acción de enzimas microbianas, esta propiedad se mide mediante ensayos estandarizados, que se prueban en períodos y condiciones de almacenamiento específicos (Solano-Doblado, Alamilla-Beltrán y Jiménez-Martínez 2018, p.31).

1.2.5.5 Factores que influyen en las propiedades de las biopelículas

De acuerdo con Escobar (2020, pp.24-26) las propiedades de las biopelículas elaboradas con polímeros dependen de las características de sus componentes:

– Efecto del espesor

El espesor de las películas influye sobre las propiedades de barrera de las mismas, puesto que determina la distancia que debe recorrer el permeato (vapor de agua y gases) para propagarse de un lado a otro de la película.

– Efecto del plastificante

Los plastificantes son considerados como los principales componentes que alteran las propiedades mecánicas y de barrera de las biopelículas, debido a que interfieren en la unión que se da entre las cadenas del polímero reduciendo así su cohesión. Estos incrementan la movilidad que se produce entre las cadenas de polímeros y, por ende, la flexibilidad y elasticidad del mismo, además aumentan el volumen libre y la permeabilidad y a su vez disminuyen la temperatura de transición vítrea. En general, al aumentar la concentración del plastificante se incrementa el efecto del mismo sobre las propiedades mecánicas y barrera al vapor de agua y al oxígeno, aumentando además la flexibilidad, elongación y la permeabilidad de la película.

– Efecto de la temperatura durante el secado

La temperatura de secado afecta a las propiedades de barrera de las películas y la permeabilidad al vapor de agua. Además, se conoce que la temperatura modifica la capacidad que tienen las películas para absorber agua, por lo tanto, altera las propiedades mecánicas y de barrera de las mismas.

1.2.5.6 Aplicaciones de las biopelículas

Las biopelículas surgen como reemplazo de los plásticos de origen petroquímico en diversos usos, debido a su rápida degradación y a su contaminación prácticamente nula. La biodegradabilidad de las biopelículas ha permitido que se utilicen en la manufactura eco-amigable, haciéndolos competente como una alternativa de productos no sustentables (Aguilar y Espin 2019, p.26). De acuerdo con Ospina (2015, pp.5-6) una de las aplicaciones recientes de los biopolímeros es la producción de empaques biodegradables con atmósfera modificada que consiste en el uso de ácido poliláctico, los cuales presentan permeabilidad a gases, aumentando el tiempo de vida útil de frutas y verduras frescas, conservando la frescura, color y aromas de las mismas.

Actualmente las biopelículas se utilizan como recubrimiento en alimentos frescos y vegetales; carnes, aves, pescados (congelados y ahumados); lácteos (helados y queso), granos (panificación y botanas), confitería y frutos secos (nueces). El potencial de las biopelículas dependerá de la

aplicación específica, el tipo de alimento que se desee recubrir y sus principales mecanismos de deterioro (Escobar 2020, p.29).

1.2.6 Recubrimientos comestibles

Los recubrimientos son definidos como películas elaboradas a partir de biopolímeros y plastificantes comerciales, cuyo propósito es proteger el alimento manteniendo la transparencia, flexibilidad, dureza y mejorando las propiedades mecánicas y de barrera (Fonseca 2020, p.10). Un recubrimiento se aplica sobre la superficie de un alimento, ya sea por inmersión en una disolución o por aspersión (Solano-Doblado, Alamilla-Beltrán y Jiménez-Martínez 2018, p.31). Se considera como un recubrimiento ideal, aquel que puede prolongar la vida de almacenamiento de frutas y hortalizas frescas sin causar anaerobiosis y disminuyendo su descomposición sin afectar su calidad (Fonseca 2020, p.11).

1.2.7 Diferencia entre biopelículas y recubrimientos comestibles

Tanto las biopelículas como los recubrimientos comestibles son elaborados con sustancias poliméricas naturales de composición heterogénea. Las cuales, pueden ser ingeridas sin riesgo para el consumidor, aportándole algunos nutrimentos tales como: proteínas, almidones hidrolizados, gomas, pectinas, carrageninas y alginatos, entre otros, por lo que pueden ser comestibles o simplemente ser biodegradables. Por lo tanto, los términos película y recubrimiento se utilizan indistintamente para indicar que la superficie de un alimento se encuentra recubierta por una capa relativamente fina, de un material con una cierta composición. Sin embargo, las películas (también denominadas films) son estructuras independientes que han sido previamente elaboradas y posteriormente aplicadas sobre el alimento, mientras que los recubrimientos son finas capas de material formadas directamente sobre la superficie del producto alimentario con la intención de protegerlo o mejorarlo de alguna manera (Monroy 2019, p.22).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Objetivos

2.1.1 *General*

- Obtener y caracterizar una biopelícula a partir de residuos de cacao (*Theobroma cacao L.*) y aceite esencial de limón (*Citrus limon*) para el uso en alimentos.

2.1.2 *Específicos*

- Extraer pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica de la cáscara de cacao.
- Caracterizar la pectina obtenida de la cáscara de cacao mediante diferentes ensayos.
- Establecer las proporciones adecuadas de pectina, glicerina y aceite esencial de limón para obtener una biopelícula de calidad.
- Analizar las propiedades físico-mecánicas y microbiológicas de la biopelícula obtenida.

2.2 Hipótesis y especificación de variables

2.2.1 *Hipótesis general*

Los residuos de cacao son una fuente óptima de extracción de pectina para la obtención de una biopelícula con aceite esencial de limón para mitigar el ataque de microorganismos y sea posible su uso en alimentos.

2.2.2 *Hipótesis específicas*

- Es factible extraer pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) mediante el proceso de hidrólisis ácida y precipitación alcohólica.
- La variación de pH y ácido empleado en la hidrólisis ácida influirá en la cantidad de pectina obtenida.
- La modificación del porcentaje de pectina y glicerina influirá en la elasticidad de las biopelículas obtenidas.

- Las propiedades microbiológicas de la biopelícula se verán afectadas por el porcentaje de aceite esencial utilizado en la formulación.

2.2.3 *Identificación de variables*

Tabla 1-2: Variables dependientes e independientes

Variables dependientes	Variables independientes
Extracción de pectina	<ul style="list-style-type: none"> – Niveles de pH – Tipos de ácido
Obtención de la biopelícula	<ul style="list-style-type: none"> – Porcentaje de pectina – Porcentaje de glicerina

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.2.4 Operacionalización de variables

Tabla 2-2: Operacionalización de variables en la extracción de pectina y obtención de la biopelícula

Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Categorización	Indicadores	Método/ Técnica/ Instrumento de medición
Extracción de pectina	Dependiente	Proceso que consiste en dos etapas, la primera es la hidrólisis ácida, etapa donde se especifican condiciones de pH, temperatura y tiempo y la segunda etapa es la de precipitación alcohólica.	Ensayos de laboratorio	Porcentaje de metoxilos	Análisis volumétrico
Niveles de pH	Independiente	Medida de acidez o alcalinidad de una disolución, indica la concentración de iones de hidrógeno presentes en determinadas soluciones.	Hidrólisis ácida	pH=2 pH= 3	pH-metro
Tipos de ácido	Independiente	Ácido cítrico: es un ácido orgánico tricarbónico de fórmula molecular $C_6H_8O_7$ que está presente en la mayoría de las frutas, sobre todo en los limones y naranjas. Ácido clorhídrico: también conocido como ácido muriático o sal fumante es una disolución acuosa del gas cloruro de hidrógeno (HCl).	Hidrólisis ácida	Ácido clorhídrico Ácido cítrico	Visual
Obtención de la biopelícula	Dependiente	Las biopelículas se formula a partir de polisacáridos, combinado con plastificantes, gelificantes y aditivos que ayuden a mejorar las propiedades finales de la película.	Formulación con diseño factorial 2^k	Estabilidad	Pruebas físico-mecánicas

Porcentaje de pectina	Independiente	Polímero del ácido D-galacturónico unidos mediante enlaces $\alpha(1-4)$, con un número variable de esteres metílicos.	Polisacárido	Gramos	Balanza, espátula y vidrio reloj
Porcentaje de glicerina	Independiente	Alcohol conformado por 3 grupos hidroxilo. Su fórmula molecular es $C_3H_8O_3$.	Plastificante	Mililitros	Probeta

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.2.5 Matriz de consistencia

Tabla 3-2: Matriz de consistencia

ASPECTOS GENERALES				
Problema general		Objetivo general		Hipótesis general
La alta producción de empaques sintéticos de un solo uso en la industria de alimentos, genera la necesidad de elaborar nuevos productos a partir de fuentes renovables, principalmente biopelículas que ayuden a alargar la vida de anaquel de los alimentos y sean una opción amigable para el ambiente.		Obtener y caracterizar una biopelícula a partir de residuos de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) y aceite esencial de limón (<i>Citrus limon</i>) para el uso en alimentos.		Los residuos de cacao son una fuente óptima de extracción de pectina para la obtención de una biopelícula con aceite esencial de limón para mitigar el ataque de microorganismos y sea posible su uso en alimentos.
ASPECTOS ESPECÍFICOS				
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Variables de las hipótesis específicas	Técnicas de recolección de datos
¿Se extraerá pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica de la cáscara de cacao?	Extraer pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica de la cáscara de cacao.	H1: Es factible extraer pectina de la cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) mediante el proceso de hidrólisis ácida y precipitación alcohólica.	Variables dependientes: – Caracterización de la pectina – Formulación de la biopelícula	<ul style="list-style-type: none"> – Humedad – Cenizas – Peso equivalente – Porcentaje de metoxilos – Grado de esterificación – Solubilidad – Resistencia a la tracción – Transmisión al vapor de agua – Espesor – Transparencia – Estabilidad
¿Influirá el pH y el tipo de ácido empleado en la cantidad de pectina obtenida mediante hidrólisis ácida de la cáscara de cacao?	Caracterizar la pectina obtenida de la cáscara de cacao mediante diferentes ensayos.	H2: La variación de pH y ácido empleado en la hidrólisis ácida influirá en la cantidad de pectina obtenida.		

				<ul style="list-style-type: none"> - Coliformes totales - Coliformes fecales - Mohos y levaduras
¿Influirá el porcentaje de pectina y glicerina en la estabilidad de las biopelículas?	Establecer las proporciones adecuadas de pectina, glicerina y aceite esencial de limón para obtener una biopelícula de calidad.	H3: La modificación del porcentaje de pectina y glicerina influirá en la elasticidad de las biopelículas obtenidas.	Variables independientes: <ul style="list-style-type: none"> - Niveles de pH - Tipos de ácidos - Porcentaje de pectina - Porcentaje de glicerina 	<ul style="list-style-type: none"> - pH= 2 - pH= 3 - Ácido cítrico - Ácido clorhídrico - Secado natural - Tiempo de secado - Temperatura de secado
¿Intervendrá la adición de aceite esencial de limón en las propiedades microbiológicas de las biopelículas?	Analizar las propiedades físico-mecánicas y microbiológicas de la biopelícula para conocer la calidad del producto obtenido.	H4: Las propiedades microbiológicas de la biopelícula se verán afectadas por el porcentaje de aceite esencial de limón utilizado en la formulación.		

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.3 Tipo y diseño de investigación

2.3.1 Tipo de investigación

2.3.1.1 Según el método de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, ya que, se manipulan las variables independientes, para analizar el comportamiento del producto y el cambio que ocasionan a las variables dependientes del proceso, y así definir a partir de los resultados, las mejores condiciones de obtención de pectina y elaboración de la biopelícula.

2.3.1.2 Según el objeto de investigación

La investigación es teórica porque recopila datos teóricos para generar nuevos conceptos generales relacionados con la pectina extraída de las cáscaras de cacao y el aceite esencial de limón en el uso de formulaciones para la obtención de biopelículas con propiedades antimicrobianas.

2.3.1.3 Según el nivel de profundización en el objeto de estudio

Es una investigación descriptiva porque describe las propiedades físico-químicas a estudiar de la pectina de la cáscara de cacao, además es exploratoria debido a que permite la manipulación, en situación controlada, de una variable experimental del proceso de formulación de la biopelícula, para detallar que cambios generan en las propiedades físico-mecánicas y microbiológicas de las mismas.

2.3.1.4 Según la manipulación de variables

Es una investigación experimental ya que se manipula una o más variables independientes para verificar el efecto que la manipulación ejerce sobre una o más variables dependientes, dentro de los parámetros elaborados por el investigador.

2.3.1.5 Según el tipo de inferencia

La investigación es de tipo deductiva porque se pretende establecer una composición adecuada para la formulación de biopelículas variando la concentración de pectina, glicerina, con la

finalidad de obtener biopelículas que puedan ser utilizadas como recubrimientos alimenticios, conservando las propiedades organolépticas y microbiológicas de los mismos.

2.3.1.6 Según el período temporal

Es una investigación transversal porque el estudio se realizará en un periodo de tiempo determinado para dar solución al problema planteado.

2.3.1.7 Según la condición de estudio

La investigación es práctico-documental ya que se la realizará basándose en estudios similares obtenidos de revistas, libros, artículos y tesis que permitan realizar los objetivos planteados por el investigador.

2.3.2 Diseño experimental de la investigación

2.3.2.1 Diseño factorial 2^k para la obtención de pectina

El proceso de extracción de la pectina se realizó utilizando como agentes de extracción el ácido cítrico y ácido clorhídrico y niveles de pH 2 y 3, aplicando un diseño factorial 2^2 , obteniendo un total de 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, los datos obtenidos se analizarán mediante análisis estadísticos con la finalidad de observar el efecto de las variables independientes sobre la variable respuesta cantidad de pectina (rendimiento).

Para cada tratamiento se pesará 35 g. de pectina y se mezclará con 560 ml de agua acidula tomando en cuenta las variables a = ácido clorhídrico, b = ácido cítrico, c = pH 2 y d = pH 3, con un tiempo de hidrólisis de 90 min y temperatura de proceso de 90 °C.

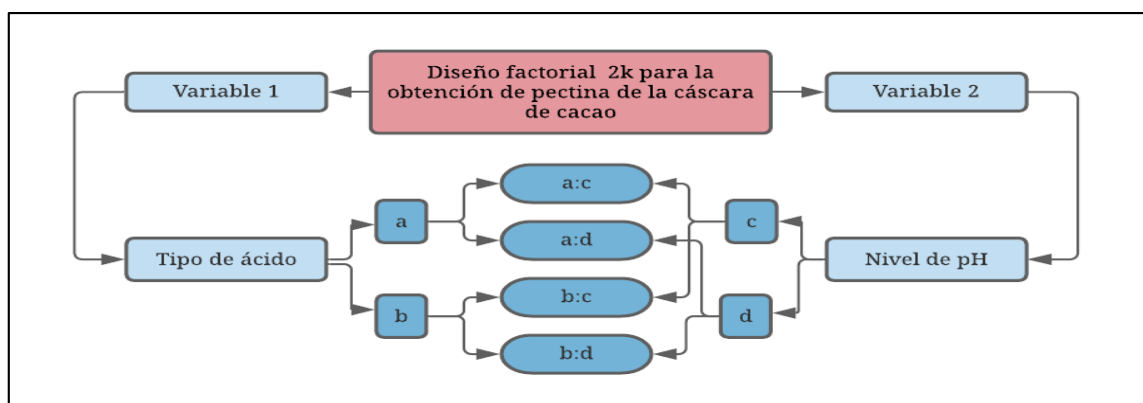


Gráfico 1-2: Diseño factorial 2^k para la obtención de pectina de la cáscara de cacao

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Los resultados que se obtendrán será en gramos de pectina, datos que se utilizaran para calcular el rendimiento y así determinar el tratamiento más idóneo para la extracción de pectina de la cáscara de cacao.

El rendimiento se calculará mediante la siguiente ecuación:

$$\%Rendimiento = \frac{\text{peso en gramos de pectina}}{\text{peso en gramos de polvo de cacao}} * 100\%$$

Ecuación 1-2: Porcentaje de Rendimiento

Fuente: (Nizama 2015, p.56).

2.3.2.2 *Diseño factorial 2^k para la elaboración de las biopelículas*

La elaboración de las biopelículas se realizó mediante un diseño factorial 2^k, en el cual se empleó dos variables con un valor mínimo y máximo; la primera variable corresponde al porcentaje de pectina (CP) con un valor mínimo de 1% (CP1) y un máximo de 3% (CP2) y la segunda variable fue porcentaje de glicerina (CG) con valores mínimo y máximo de 0,75% (CG1) y 1,50% (CG2) respectivamente, teniendo en total 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno.

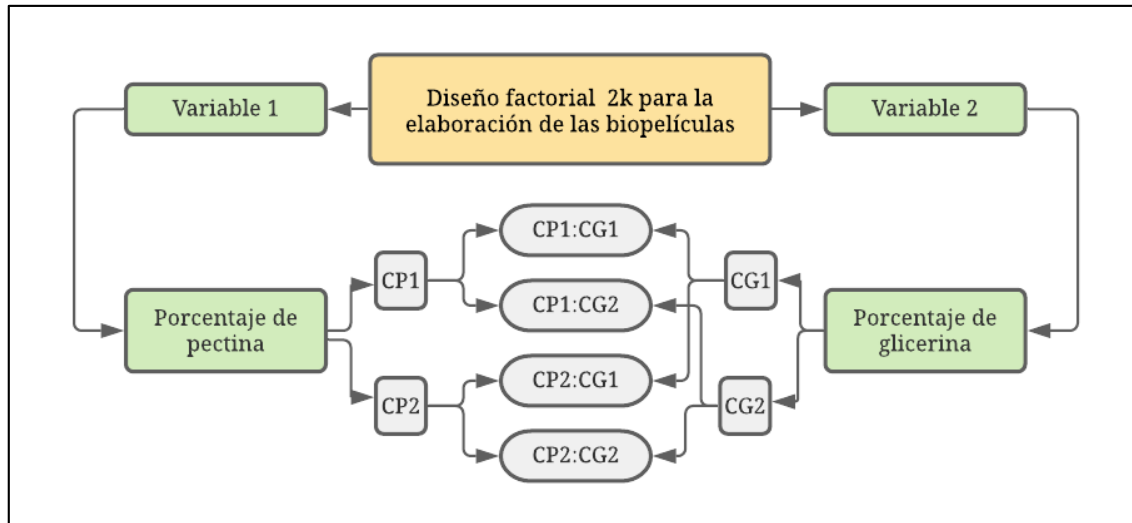


Gráfico 2-2: Diseño factorial 2k para la elaboración de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.4 Unidad de análisis

Para esta investigación se tiene 2 unidades de análisis, la extracción de pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) y el uso del aceite esencial de limón (*Citrus limon*), como materia prima principal para la elaboración de una biopelícula, con el objetivo de sustituir los

recubrimientos sintéticos de un solo uso de la industria de alimentos, alargando la vida de anaquel de productos poco procesados.

2.5 Población de estudio

La población de estudio para esta investigación corresponde a muestras de cacao (*Theobroma cacao L.*); que crecen en lugares cálidos como la ciudad de Tena; se efectuará un muestreo para seleccionar a los mejores ejemplares, siendo su principal característica el grado de madurez en el que se encuentran, libre de manchas de descomposición.

2.6 Tamaño de muestra

Para esta investigación el tamaño de muestra inicial para la obtención de pectina de la cáscara de cacao será de 70 mazorcas de cacao procedentes de la granja del MAGAP ubicada en la vía a Pano en la ciudad de Tena provincia de Napo, mientras que el aceite esencial de limón (250 ml) se obtuvo en la botica Bristol, ubicada en la ciudad de Riobamba (Larrea 22-34 y 1era Constituyente, frente al Parque Sucre).

2.7 Selección de la muestra

El tipo de muestra estudiada en la investigación es no probabilístico, porque se desconoce la cantidad de pectina que se obtendrá, para los correspondientes análisis y elaboración de la biopelícula. Así mismo el análisis de selección de muestra de cacao, es al azar, se lo realizó en la región amazónica, ciudad Tena, provincia de Napo debido a la alta producción agrícola que tiene este producto.

2.8 Técnica de recolección de datos

2.8.1 Información de recolección de datos

La presente investigación, se basará en la recopilación de información brindada por estudios relacionados con la obtención de empaques o películas biodegradables a partir de fuentes renovables, además del poder antimicrobiano que ejercen los aceites esenciales en la formulación de biopelículas, con el fin de analizar los diferentes métodos de extracción de pectina para su posterior uso en la elaboración de los biopelículas activas con aceites esenciales. También se tendrá noción de las diferentes pruebas de caracterización que determina la calidad de la biopelícula en base a las normas establecidas.

2.8.2 *Materiales y reactivos*

2.8.2.1 *Materiales*

- Secador de bandejas eléctrico tipo armario
- Molino Thomas
- Balanza analítica y digital
- Reverbero
- Baño maría
- Agitador magnético
- Estufa
- Mufla
- Probetas de 100 y 500 ml
- Vasos de precipitación de 500 y 1000 ml
- Balón de aforo de 1000 ml
- Varilla de agitación
- Espátula
- Vidrio reloj
- Moldes
- Cajas Petri
- Cápsulas
- Crisoles
- Piseta
- Termómetro
- Cronómetro

2.8.2.2 *Reactivos*

- Ácido clorhídrico 1N
- Ácido cítrico 1%
- Agua destilada
- Alcohol al 60 y 96%
- Glicerina
- Aceite esencial de limón
- Pectina de la cáscara de cacao

2.8.3 Técnicas para la obtención de la biopelícula

2.8.3.1 Extracción de pectina

– Obtención de polvo de la cáscara de cacao

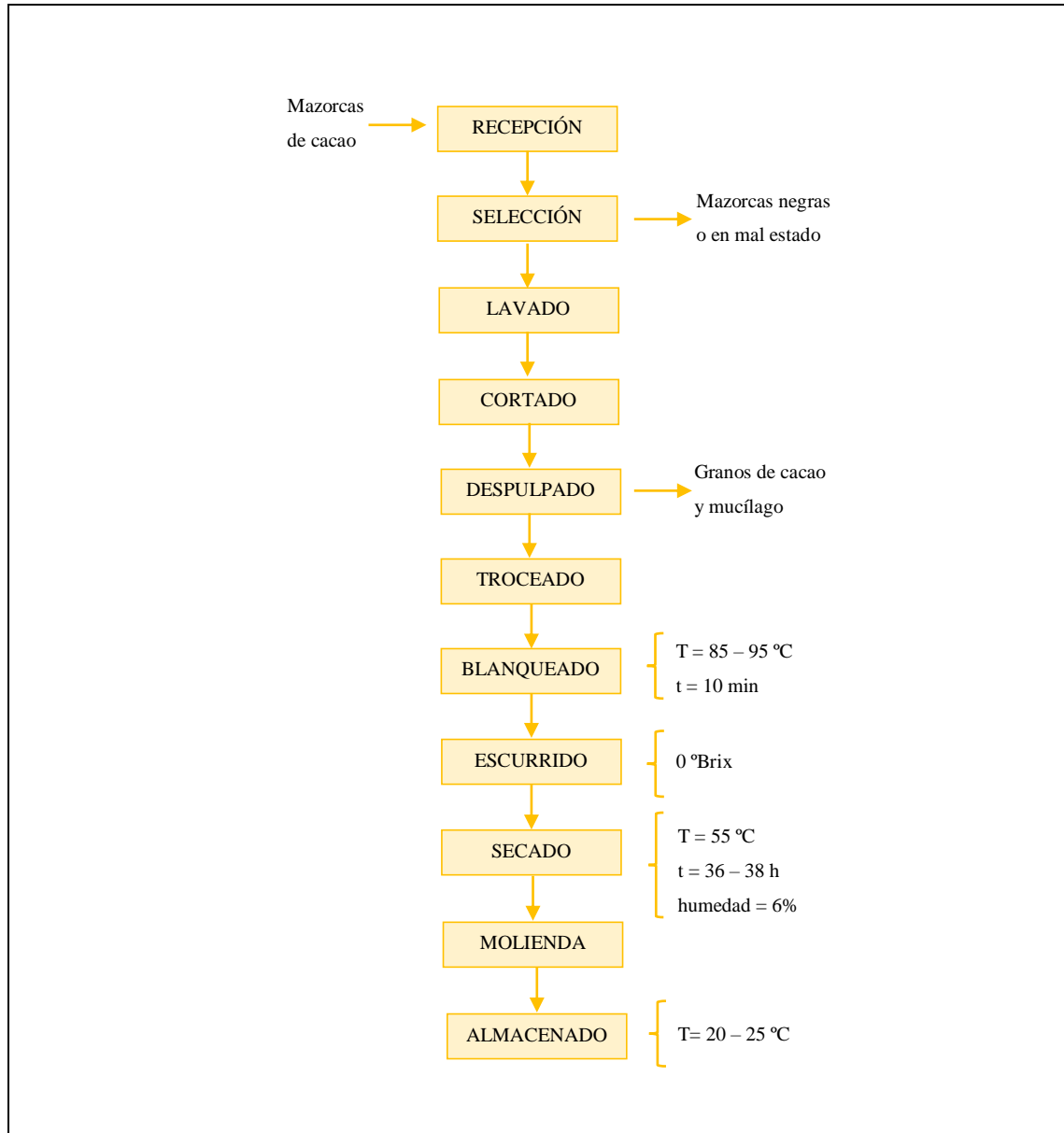


Gráfico 3-2: Diagrama de flujo de obtención de polvo de la cáscara de cacao

Fuente: (Nizama 2015, p.49).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Extracción de pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica

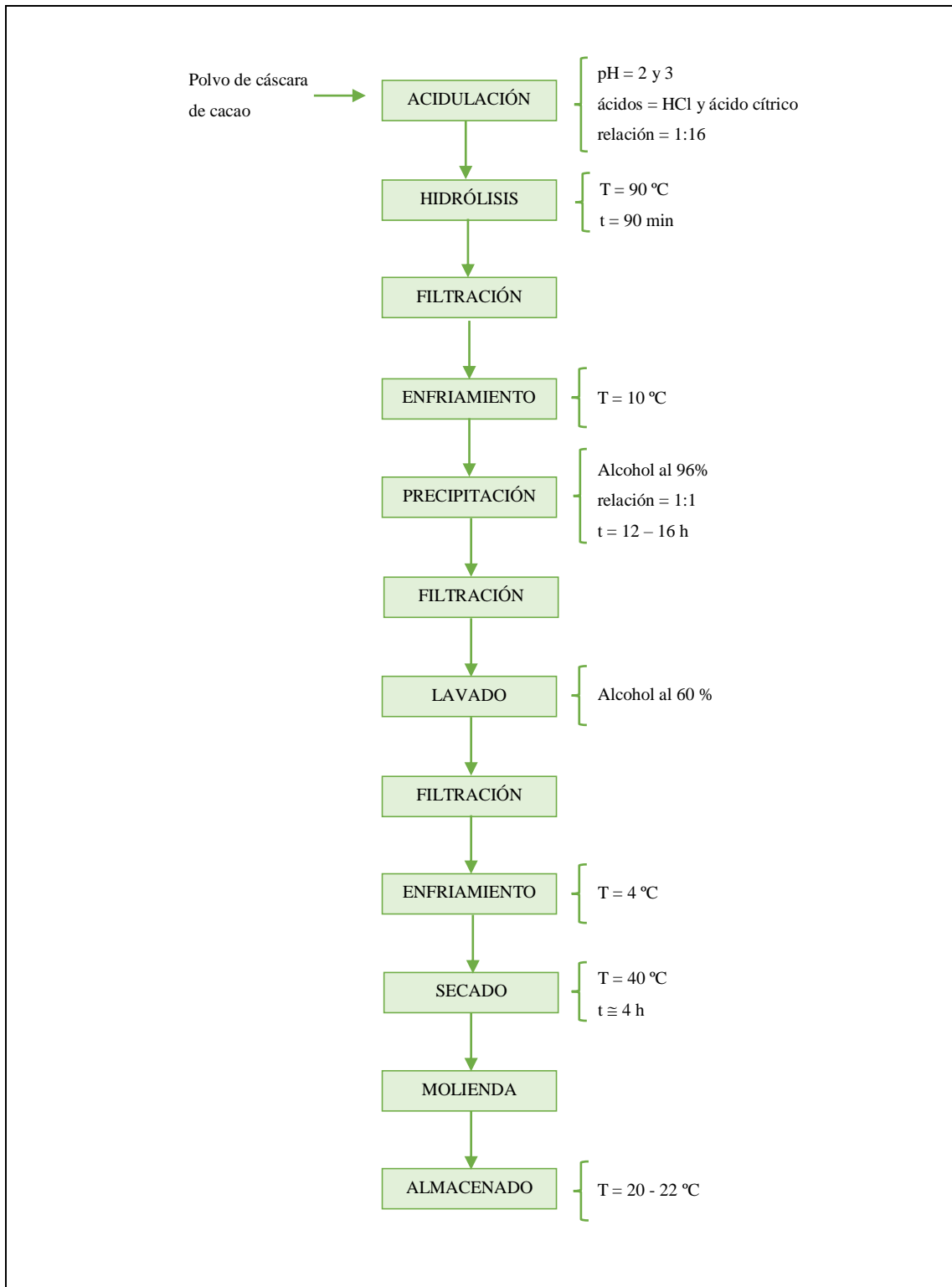


Gráfico 4-2: Diagrama de flujo de la extracción de pectina mediante hidrólisis ácida y precipitación alcohólica

Fuente: (Nizama 2015, p.49).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.3.2 Elaboración de la biopelícula

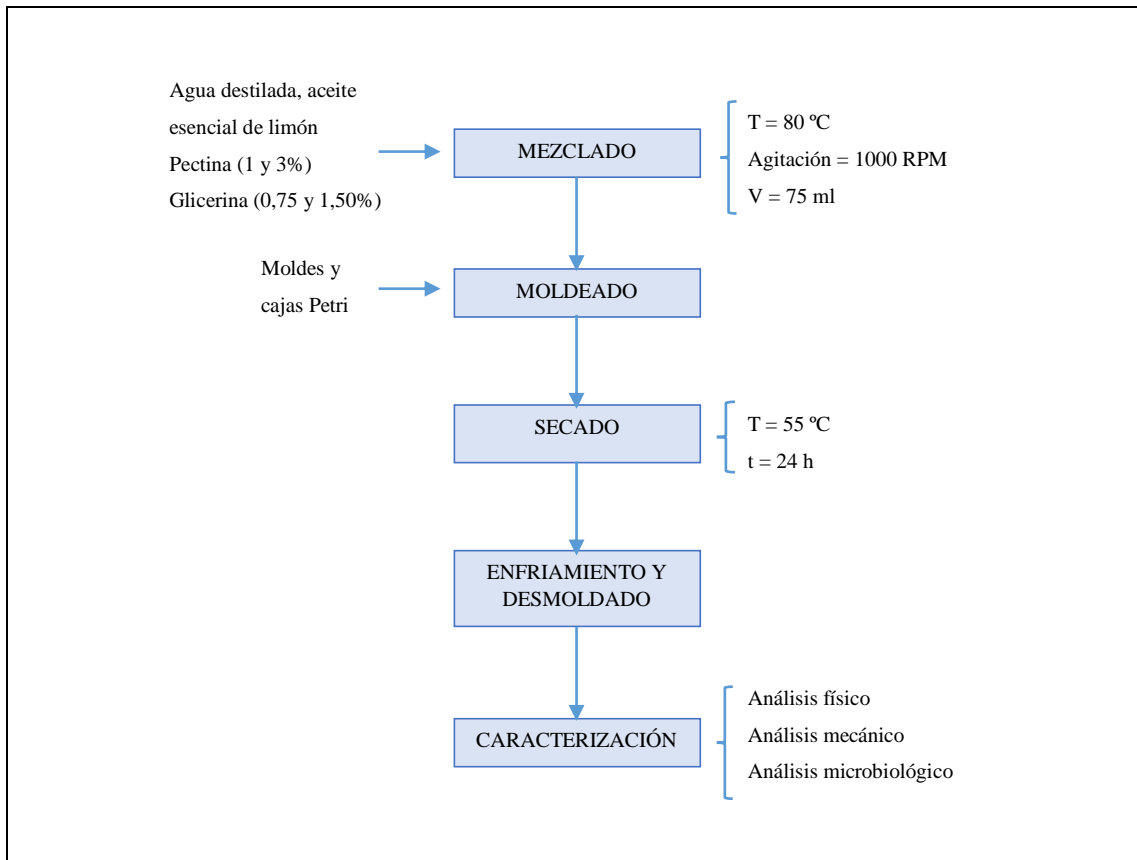


Gráfico 5-2: Diagrama experimental para la formulación de las biopelículas

Fuente: (Del Aguila y Zegarra 2016, p.67).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4 Ensayos de caracterización de la pectina

2.8.4.1 Determinación del porcentaje de humedad de la pectina

Tabla 4-2: Cálculo del porcentaje de humedad de la pectina

Método de secado a la estufa a presión atmosférica	
Procedimiento:	
–	Realizar la prueba por triplicado.
–	Tarar las capsulas, etiquetarlas y pesarlas.
–	Pesar 1 g de muestra (Peso inicial) en cada una de las capsulas de peso conocido.
–	Colocar las capsulas con muestra en la estufa a una temperatura de 105 °C por 24 h o hasta obtener un peso constante.
–	Enfriar las capsulas en un desecador por un periodo mínimo de 30 min.
–	Pesar las capsulas con la muestra seca.
–	Realizar la resta entre el peso de la capsula con la muestra seca – peso de la capsula (Peso final).

Cálculos:
$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$
Ecuación 2-2: Porcentaje de humedad de la pectina
Norma:
AOAC, 2000

Fuente:(Calderon 2017, p.41).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.2 Determinación del porcentaje de cenizas de la pectina

Tabla 5-2: Cálculo del porcentaje de cenizas de la pectina

Método de calcinación
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Realizar la prueba por triplicado. – Tarar los crisoles, etiquetarlos y pesarlos (Peso del crisol). – Pesar 1,5 g de muestra (Peso de la muestra seca) en cada uno de los crisoles de peso conocido. – Incinerar la muestra en un reverbero hasta que no emita humo y las paredes del crisol estén blancas. – Introducir los crisoles con las muestras incineradas a la mufla a una temperatura de 550 °C durante un periodo de tiempo de 4 horas. – Pasar los crisoles a un desecador para que se enfríen hasta temperatura ambiente. – Tomar su peso en la balanza analítica (Peso del crisol con la muestra calcinada).
Cálculos:
$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del crisol con la muestra calcinada} - \text{Peso del crisol}}{\text{Peso de la muestra seca}} \times 100$
Ecuación 3-2: Porcentaje de cenizas de la pectina
Norma:
AOAC, 2000

Fuente: (Cobeñas y Guerrero 2018, pp.33-34).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.3 Caracterización fisicoquímica de la pectina

Se realizó en función de la metodología reportada por Owens et al. (1952) citada por Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño (2017, p.133) y Nizama (2015, pp.92-94), aplicándola al tratamiento más efectivo (mayor rendimiento de extracción), realizando 3 réplicas.

2.8.4.3.1 Determinación del peso equivalente y de la acidez libre de la pectina

Tabla 6-2: Cálculo del peso equivalente y la acidez libre de la pectina

Método volumétrico
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> - Pesar 0,5 g de pectina en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y humedecer con 5 ml de etanol. - Agregar 100 ml de agua destilada y agitar hasta que la pectina se disuelva completamente. - Agregar 5 gotas de rojo fenol. - Titular hasta el cambio de color del indicador (pH 7.5), el cambio deberá persistir por lo menos 30 s.
Cálculos:
$\text{Peso equivalente} = \frac{\text{mg componente ácido}}{\text{meq A}}$
<p>Ecuación 4-2: Peso equivalente de la pectina</p> <p>Fuente: (Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño 2017, p.133).</p> <p>Donde,</p> <ul style="list-style-type: none"> - meq A: meq de NaOH utilizados en la titulación - componente ácido: mg de pectina
$\text{Acidez libre} = \frac{\text{meq A}}{\text{g componente ácido}}$
<p>Ecuación 5-2: Acidez libre de la pectina</p> <p>Fuente:(Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño 2017, p.133).</p> <p>Donde,</p> <ul style="list-style-type: none"> - meq A: meq de NaOH utilizados en la titulación - componente ácido: g de pectina
Norma:
Método de Owens et al (1952)

Fuente: (Nizama 2015, p. 92).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.3.2 Determinación del porcentaje de metoxilo de la pectina

Tabla 7-2: Cálculo del porcentaje de metoxilo de la pectina

Método volumétrico
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> - Neutralizar la solución utilizada en el cálculo del peso equivalente y acidez libre, añadiendo 25 ml de NaOH (0,25 N). - Tapar y agitar vigorosamente, para dejar reposar por 30 minutos. - Agregar 25 ml de HCl (0,25 N) y agitar hasta que el color rosado desaparezca. - Adicionar 3 gotas de fenolftaleína y titular con solución de NaOH (0,1 N) hasta el cambio de color.
Cálculos:
$\% \text{ Metoxilo} = \frac{\text{meq B} * 31}{\text{mg componente ácido}} \times 100$
<p>Ecuación 6-2: Porcentaje de metoxilo de la pectina</p> <p>Donde,</p> <ul style="list-style-type: none"> - meq B: meq de NaOH utilizados en la segunda titulación - 31: corresponde al peso molecular del metoxilo (CH₃O) expresado en mg/meq

- Componente ácido: peso de la muestra en mg
Norma:
Método de Owens et al. (1952)

Fuente: (Nizama 2015, p.92).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.3.3 Determinación del grado de esterificación de la pectina

Tabla 8-2: Cálculo del grado de esterificación de la pectina

Método volumétrico
Procedimiento:
- Relacionar los miliequivalentes (meq) de NaOH gastados en la segunda titulación y la suma de los miliequivalentes de NaOH gastados en la primera y segunda titulación.
Cálculo:
$\% \text{ Grado de esterificación} = \frac{\text{meq } B}{\text{meq } A + \text{meq } B} \times 100$
Ecuación 7-2: Porcentaje de grado de esterificación de la pectina
Donde,
- meq A: meq de NaOH gastados en la primera titulación
- meq B: meq de NaOH utilizados en la segunda titulación
Norma:
Método de Owens et al. (1952)

Fuente: (Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño 2017, p.133).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.3.4 Determinación del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina

Tabla 9-2: Cálculo del porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina

Método Volumétrico
Procedimiento:
- Relacionar los miliequivalentes de NaOH utilizados en la primera y segunda titulación, el peso molecular del AAG con el peso del componente ácido
Cálculos:
$\%AAG = \frac{176 * 100 * (\text{meq } A + \text{meq } B)}{\text{mg componente ácido}}$
Ecuación 8-2: Porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina
Donde,
- 176: corresponde al peso molecular del ácido anhídrido galacturónico (mg/meq)
- meq A: meq de NaOH utilizados en la primera titulación
- meq B: meq de NaOH utilizados en la segunda titulación
- componente ácido: peso de la pectina (mg)

Norma:
Método de Owens et al. (1952)

Fuente: (Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño 2017, p.133).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.4 *Determinación de la solubilidad de la pectina*

Tabla 10-2: Determinación de la solubilidad de la pectina

Método cualitativo
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Disolver la pectina en agua caliente a 80 °C a una concentración de 2 a 5% – O en agua fría a una concentración de 0,5%
Cálculos:
Medición cualitativa (Observar la formación de una solución coloidal opalescente)
Norma:
(Nizama 2015, p.94).

Fuente: (Nizama 2015, p.94).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.4.5 *Determinación del pH de la pectina*

Tabla 11-2: Determinación del pH de la pectina

Método potenciométrico
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Disolver en agua fría a una concentración de 0,5% y medir con un pH-metro
Cálculos:
Observar resultados reflejados por el pH-metro
Norma:
(Nizama 2015, p.94).

Fuente: (Nizama 2015, p.94).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5 *Ensayos de caracterización de la biopelícula*

2.8.5.1 *Determinación del porcentaje de humedad de la biopelícula*

Tabla 12-2: Cálculo del porcentaje de humedad de la biopelícula

Método de secado a la estufa
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Realizar la prueba por triplicado. – Recortar muestras de 3×3 cm por cada tratamiento.

<ul style="list-style-type: none"> - Pesar y colocarlas en una estufa con recirculación de aire a 105 °C por 24 h o hasta peso constante. - Enfriar en un desecador hasta llegar a temperatura ambiente, y pesar.
Cálculos:
$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso inicial de la película} - \text{Peso final de la película}}{\text{Peso inicial de la película}} \times 100$
Ecuación 9-2: Porcentaje de humedad de la biopelícula
Norma:
(Nuñez 2014, p.37).

Fuente: (Nuñez 2014, p.37).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5.2 Determinación del porcentaje de solubilidad de la biopelícula

Tabla 13-2: Cálculo del porcentaje de solubilidad de la biopelícula

Método cualitativo
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> - Cortar muestras de 2,5×2,5 cm de cada una de las formulaciones. - Pesarlas en una balanza analítica y colocarlas en vasos de precipitación con 80 ml de agua destilada. - Colocar en el agitador mecánico a 100 rpm por un tiempo de 1 h a temperatura ambiente. - Filtrar las biopelículas y secarlas en la estufa a 60 °C hasta obtener un peso final constante.
Cálculos:
$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Peso inicial biopelícula} - \text{Peso final biopelícula}}{\text{Peso inicial biopelícula}} \times 100$
Ecuación 10-2: Porcentaje de solubilidad de la biopelícula
Norma:
(Chapuel y Reyes 2019, pp.66-67).

Fuente: (Chapuel y Reyes 2019, pp.66-67).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5.3 Determinación de propiedades mecánicas de tracción de la biopelícula

Tabla 14-2: Cálculo de la resistencia a la tracción

Ensayo mecánico
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> - Cortar probetas de cada uno de los tratamientos. - Colocar cada uno de los extremos de la probeta en las mordazas de la máquina. - Encender la máquina hasta que la probeta se rompa.
Cálculos:
$\text{Resistencia a la tracción} = \frac{\text{Fuerza necesaria para romper la muestra (N)}}{\text{Área de la sección transversal (m}^2\text{)}}$
Ecuación 11-2: Resistencia a la tracción de la biopelícula
Fuente: (García 2015, p.27).

Norma:
NTE INEN 2635 (2012): Método de Ensayo para las propiedades de Tracción de Laminas Plásticas Delgadas.

Fuente: (INEN 2012, pp.2-3).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5.4 Determinación del grado de transmisión de vapor de agua

Tabla 15-2: Cálculo de la permeabilidad del vapor de agua

Método desecante
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Realizar las pruebas por triplicado. – Activar sílica gel a una temperatura de 200 °C por 4 horas. – Llenar las ¾ partes de los tubos de ensayo que se van a utilizar, tomando los datos del diámetro interno de la boquilla que estará en contacto con la biopelícula. – Cortas muestras de 2,5×2,5 cm por cada tratamiento a analizar, y medir el espesor de cada una. – Colocar las muestras en la boca del tubo de ensayo sellándolos completamente con cinta. – Pesar cada uno de los tubos de ensayo ya sellados, y colocarlos en un desecador con un ambiente de humedad relativa entre 60 – 65% en cuya base estará una solución de cloruro de sodio saturada. – Pesar cada hora por un periodo de tiempo de 6 h consecutivas.
Cálculos:
$PVA = \frac{vta * e}{A * \Delta Pv}$
<p>Ecuación 12-2: Permeabilidad al vapor de agua</p> <p>Fuente: (Sánchez Aldana et al. 2015, p. 19)</p> <p>Donde,</p> <p>PVA – permeabilidad al vapor de agua (g·s⁻¹·m⁻¹·Pa⁻¹)</p> <p>vta – pendiente de la velocidad de transferencia de vapor de agua (g·s⁻¹) obtenida de la recta (tiempo vs ganancia de peso)</p> <p>e – espesor de la biopelícula (m)</p> <p>A – área de transferencia de vapor de agua (m²)</p> <p>ΔPv – diferencia de presión de vapor de agua entre la atmósfera de la sílica y la del desecador (31672,2 Pa)</p>
Norma:
(Pastuizaca 2020, pp.33-34).

Fuente: (Pastuizaca 2020, pp.33-34).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5.5 Pruebas microbiológicas de las biopelículas

Tabla 16-2: Determinación de las propiedades microbiológicas de la biopelícula

Método cuantitativo
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Recortar en cuadritos muy pequeños una muestra de 5 g de cada tratamiento a analizar.

Cálculos:
Resultados del laboratorio SACMIC ubicado en la ciudad de Riobamba a cargo de la Dra. Gina Álvarez
Norma:
AOAC 997.02 Ed 20,2016

Fuente: (Chapuel y Reyes 2019, pp.73-74).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

2.8.5.6 Ensayo de biodegradabilidad de las biopelículas

Tabla 17-2: Cálculo del porcentaje de biodegradabilidad

Método cualitativo
Procedimiento:
<ul style="list-style-type: none"> – Recortar muestras de plástico de dimensiones de 3×3 cm, las cuales se evaluarán en agua, compost y aire. – Para cada uno de los ensayos se considera un periodo de tiempo de 15 días, tomando fotografías cada 5 días. – Calcular el área de las muestras con la ayuda del programa “Imagen J”
Cálculos:
$\% \text{ Biodegradabilidad} = \frac{\text{Área inicial} - \text{Área final}}{\text{Área inicial}} \times 100$
Ecuación 13-2: Porcentaje de biodegradabilidad
Donde
Área inicial – corresponde al área de la muestra de la biopelícula en el día 1
Área final - corresponde al área calculada en cada intervalo de tiempo.
Norma:
(Charro 2015, pp.33-34).

Fuente: (Charro 2015, pp.33-34).

Realizado por: Córdova, L. 2021.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Análisis y Discusión de Resultados

3.1.1 Análisis físico de las mazorcas de cacao

Luego de la recepción de las mazorcas de cacao en el laboratorio de Procesos Industriales de la ESPCOH, se procedió a realizar el análisis de las características físicas de las muestras, donde se eligieron 5 ejemplares aleatoriamente, para ello se empezó lavando los frutos con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 30 ppm con el fin de eliminar cualquier tipo de sustancia extraña (gérmenes, tierra, agroquímicos, etc.), posteriormente se determinó el peso del fruto fresco con el uso de una balanza, se tomaron las medidas del largo y diámetro, midiendo cada fruto con ayuda de un flexómetro, y por último visualmente se caracterizó su color y su forma.

Tabla 1-3: Análisis físico de la mazorca de cacao

N°	ANÁLISIS FÍSICO DE LA MAZORCA DE CACAO				
	PESO CÁSCARA (g)	LONGITUD (cm)	DIÁMETRO (cm)	COLOR	FORMA
1	288,55	18,50	7,10	Amarillo	Elíptica
2	300,87	21,90	7,60	Amarillo	Elíptica
3	296,72	20,20	7,40	Rojizo -anaranjado	Elíptica
4	285,49	19,90	7,20	Rojizo - anaranjado	Elíptica
5	331,42	22,70	8,10	Rojizo	Elíptica
PROMEDIO	300,61	20,64	7,48		

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En función a los resultados expresados en la tabla 1-3 se puede juzgar de acuerdo al color de cada muestra que para la obtención de la pectina se trabajó con las variaciones criollo (amarillo), trinitario (rojizo) de acuerdo a lo reportado por Calderon (2017, p.4) y el clon CCN-51 (rojizo - anaranjado) según lo expresó por Del Aguila y Zegarra (2016, p.29), la forma de cada uno de los especímenes es elíptica, característica de la mazorca de cacao. Los valores de longitud están en un rango de 18,50 – 22,70 cm con un diámetro que oscila entre 7,10 – 8,10 cm, valores muy próximos a los manifestados por Castillo, Alvarez y Contreras (2018, p.5) los mismos que están entre 18,20 – 22,10 cm para la longitud y 8,18 -9,19 cm para el diámetro; pero se tiene valores mayores de longitud en relación a lo citado por Nizama (2015, p.42) con un tamaño entre 14,5 –

16,1 cm, mientras que los valores de diámetro que reporta el mismo autor están dentro del rango obtenido, van desde 7,0 a 8,3 cm. El peso de la cáscara de los frutos tiene un valor entre 288,5 – 331,42 g, mismos que son muy similares en comparación a los establecidos por Castillo, Alvarez y Contreras (2018) y Nizama (2015) que están entre 270,1 – 440,1 g y 281,3 - 340,0 g respectivamente.

3.1.2 Análisis del rendimiento de la pectina de la cáscara de cacao

Mediante el uso del diseño experimental factorial 2^k , se procedió a realizar el cálculo del porcentaje de rendimiento de la pectina obtenida, en función a la cantidad de polvo de cáscara de cacao que se utilizó, obteniendo un total de 4 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, donde el T₁ y T₂ representan a los tratamientos con ácido clorhídrico y un pH de 2 y 3 respectivamente, mientras que T₃ y T₄ corresponden a los tratamientos con ácido cítrico y un pH de 2 y 3 respectivamente; obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 2-3: Resultados del rendimiento de la pectina obtenida de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	PESO (g)			Rendimiento %	Rendimiento promedio %
		Polvo de la cáscara de cacao	Pectina	Promedio de la pectina		
T ₁	ac1	35	2,46	2,41	7,03	6,87
	ac2		2,63		7,50	
	ac3		2,15		6,14	
	ac4		2,38		6,81	
T ₂	ad1		3,92	3,71	11,19	10,60
	ad2		3,54		10,10	
	ad3		3,75		10,72	
	ad4		3,64		10,40	
T ₃	bc1		2,91	2,89	8,30	8,26
	bc2		2,85		8,14	
	bc3		2,90		8,29	
	bc4		2,91		8,32	
T ₄	bd1		2,41	2,33	6,89	6,67
	bd2		2,23		6,37	
	bd3		2,24		6,41	
	bd4		2,45		6,99	

Realizado por: Córdova, L. 2021.

La tabla 2-3 representa la cantidad en g que se obtuvo de pectina en función al peso que se utilizó de polvo de la cáscara de cacao, para así calcular el porcentaje de rendimiento; para esto en el proceso de hidrólisis se empleó 35 g de polvo de cacao con 560 ml de agua acidulada (con ácido clorhídrico y ácido cítrico de acuerdo el tratamiento) lo que corresponde a una relación 1:16, es decir que por cada gramo de pectina se adicionara 16 mililitros de agua acidulada.

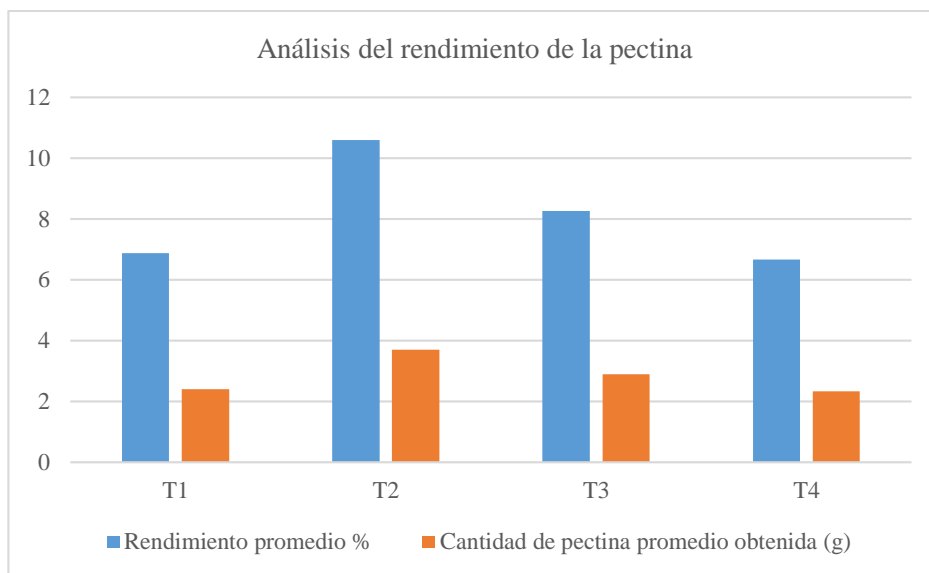


Gráfico 1-3: Análisis del rendimiento de la pectina

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En el gráfico 1-3 se observa los resultados promedio obtenidos en el proceso de extracción de la pectina a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*), los mismos que fueron 2.41, 3.71, 2.89 y 2.33 g de pectina para los tratamientos 1 (T₁), 2 (T₂), 3 (T₃) y 4 (T₄) respectivamente, teniendo valores de rendimiento de 6.87, 10.60, 8.26 y 6.67% para cada uno de los tratamientos. De acuerdo con los datos obtenidos se tiene que el tratamiento que ofrece un mejor rendimiento es el T₂ (ácido clorhídrico y pH 3) y el tratamiento que presente el rendimiento más bajo es el T₄ (ácido cítrico y pH 3) con valores muy similares a T₁ (ácido clorhídrico pH 2), mientras que T₃ (ácido cítrico y pH 2) refleja un valor de rendimiento intermedio en comparación entre los 4 tratamientos.

En el estudio de “Extracción de pectina por hidrólisis ácida y precipitación alcohólica a partir de cáscaras de cacao híbrido CCN51 (*Theobroma cacao L.*) para la fabricación de un prototipo de empaque alimentario” realizado por Del Aguila y Zegarra (2016, p.84), el autor reporta que en la extracción de pectina a partir del proceso de hidrólisis con HCl y un pH 3 a una temperatura de 90°C y un tiempo de 80 min, obtiene un rendimiento de 10,39 % valor que es muy próximo al obtenido en T₂ en el mismo que se obtiene un 10,60% trabajando con HCl y pH 3 a una temperatura de 90°C y un tiempo de 90 min; mientras que el porcentaje que reporta para la

hidrólisis con ácido cítrico a la mismas condiciones es de 12,61% observando que existe una diferencia muy significativa al valor obtenido en T₄ que fue de 6,67%. Pero en comparación con la investigación de “Obtención y caracterización de pectina a partir de cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) variedad CCN-51” realizada por Calderon (2017, p.47), en el cual trabaja con valores de pH de 1.5, 2.5 y 3.5 obtiene valores de rendimiento de 1,62% como mínimo y de 2,21% como máximo, que al comparar con los rendimientos que se alcanzaron en la experimentación se puede verificar que los valores que se obtuvieron mejoraron y son altos.

Según los resultados del trabajo de “Obtención y caracterización de pectina a partir de cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)” de Nizama (2015, p.71), en el cual trabaja con las mismas variables de ácido y pH a una temperatura de 95°C con un tiempo de hidrólisis de 90 min, reporta valores de rendimiento entre 5.73 – 8.78 %, valores que están dentro del rango de los resultados que se obtuvo en el presente estudio.

Una alternativa para mejorar el rendimiento y obtener mejores resultados sería variar el tipo de ácido que se emplea en el proceso de hidrólisis puesto que en el estudio de “Caracterización de la pectina obtenida de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) mediante variación del ácido y temperatura” realizado por Cobeñas y Guerrero (2018, p.41), obtiene un porcentaje de rendimiento de 29,69 % al trabajar con ácido láctico a una temperatura de 95°C, que en comparación con los datos obtenidos es un valor relativamente alto.



Figura 1-3: Pectina obtenida de la cáscara de cacao en cada uno de los tratamientos

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.3 *Análisis de la varianza (ANOVA) para el rendimiento de la obtención de la pectina*

El experimento factorial nos permite observar la influencia de cada variable independiente sobre la variable dependiente y la interacción entre estas variables. Por lo tanto, deben definirse los factores y el nivel del experimento. Un factor es cualquier influencia que pueda afectar la variable de respuesta y está controlada por el experimentador. El nivel es la categoría o intensidad previamente determinada de cada factor. En un diseño factorial, se requieren al menos dos repeticiones para analizar las observaciones de los principales efectos e interacciones, de modo

que se puedan contrastar las hipótesis propuestas anteriormente. Para resolver este tipo de problemas, utilizamos el modelo de análisis de varianza (ANOVA). (Del Aguila y Zegarra 2016, p.79) Los resultados obtenidos en la Tabla 2-3, se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), donde el estudio permite investigar si existe diferencia significativa entre los tratamientos, para lo cual se plantean las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula: no existen diferencias significativas
- Hipótesis alternativa: si existen diferencias significativas

Tabla 3-3: Análisis de la varianza (ANOVA) para el rendimiento de la obtención de pectina

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad para F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	6,477025	1	6,477025	40,05890993	3,77943E-05	4,747225347
Columnas	4,558225	1	4,558225	28,19157325	0,000185422	4,747225347
Interacción	28,4089	1	28,4089	175,7025126	1,58427E-08	4,747225347
Dentro del grupo	1,94025	12	0,1616875			
Total	41,3844	15				

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Una vez obtenidos los resultados en el análisis de varianza (ANOVA), comparamos el valor de la probabilidad de interacción con el valor del error con el que se trabajó que fue de 0.05, si el valor es menor al error existe diferencias significativas y si el valor es mayor al error no existen diferencias significativas, como el valor obtenido es menor al error se puede determinar que si existen diferencias significativas, por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Al existir tratamientos diferentes, se procede a realizar la Prueba Tukey, a fin de determinar el tratamiento más significativo de la investigación.

3.1.4 Prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey para el rendimiento de la obtención de la pectina

La prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey, consiste en realizar múltiples comparaciones luego de haber rechazado la hipótesis nula en ANOVA. La prueba se realiza para determinar en qué tratamiento se encuentran las diferencias significativas. Para poder realizar esta prueba se deben tener tamaños muestrales iguales.

Tabla 4-3: Resultado del valor DSH de la pectina de la cáscara de cacao

DSH	0,84
Multiplicador	4,20
Mse	0,16
n	4,00

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

Al aplicar el método se señala con un “*” los pares de tratamientos con diferencia significativa.

Tabla 5-3: Resultados de la prueba de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey para el rendimiento de la pectina

	T₁	T₂	T₃	T₄
T₁		3,73*	1,39*	0,20
T₂			2,34*	3,94*
T₃				1,60*
T₄				

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

Los valores obtenidos en la tabla 5-3 se compararon con el valor de 0,84 que es la diferencia honestamente significativa (HSD) que se obtuvo a partir de los datos presentados en el análisis de la varianza ANOVA y las tablas estadísticas para pruebas Tukey, donde valores mayores al HSD presentan diferencias significativas y valores menores no presentan diferencias significativas, en función a esto, se puede observar que existen diferencias significativas entre los tratamientos T₁ y T₂, T₁ y T₃, T₂ y T₃ y entre T₃ y T₄, mientras que al comparar los tratamientos T₁ y T₄ se observa que no presentan diferencias significativas, por lo cual se aceptan cualquiera de los dos tratamientos, pese a que son los dos tratamientos en los cuales se obtuvieron menores rendimientos, esto debido a que guardan una muy estrecha diferencia. En función a costos de producción entre el tratamiento T₁ y T₄ se escogería T₄, ya que el precio del ácido cítrico es mucho más económico en comparación con el ácido clorhídrico, pero en función a porcentaje de producción se escoge el tratamiento T₂, debido a que es el tratamiento en el cual se obtiene mayor rendimiento para la producción en masa.

3.1.5 *Análisis sensorial de la pectina de la cáscara de cacao (Theobroma cacao L.)*

Una vez obtenido el tratamiento más idóneo se procedió a realizar el análisis sensorial de la pectina, determinando los siguientes resultados:

Tabla 6-3: Características sensoriales de la pectina

Características de la pectina	
Olor	Inodoro
Sabor	Insípido
Color	Marrón claro
Textura	Granular

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Mediante los resultados de la tabla 6-3 se tiene los datos sensoriales que presenta la pectina obtenida a partir de la cáscara de cacao, los mismos que fueron medidos mediante los sentidos (olfato, gusto, vista y tacto), teniendo como resultados una pectina inodora e insípida, de color marrón claro con textura granular.

Comparando con otros estudios de caracterización de pectina de la cáscara de cacao donde los autores Nizama (2015, p.72) y Cobeñas y Guerrero (2018, p.9) coinciden con el parámetro de color, el mismo que reportan como marrón claro, mientras que para la característica de olor Nizama (2015, p.60) expone que la pectina presente un olor a granos de cacao; pero Betancourt y Llano (2009, p.42) citan que obtienen una pectina de color crema, tonalidad que es muy parecida a la que se obtiene en los resultados del presente estudio y de sabor insípida e inodora, también expone que la textura es en polvo libre de fluidez, que se consideraría como una textura granular fina.

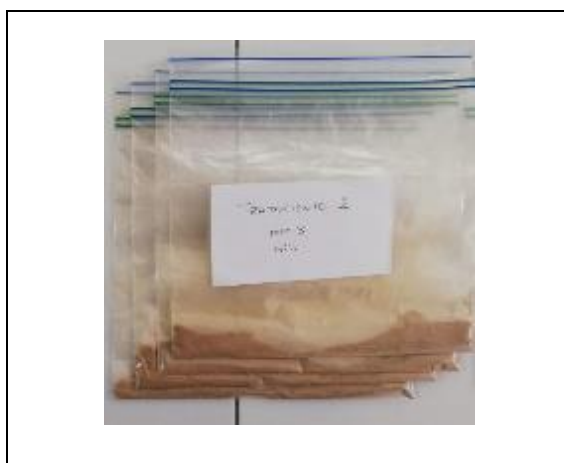


Figura 2-3: Pectina extraída en el tratamiento 2

Realizador por: Córdova, L. 2021.

3.1.6 *Caracterización fisicoquímica de la pectina de la cáscara de cacao*

Tabla 7-3: Resultados del porcentaje de humedad de la pectina

Número de repetición	Peso inicial de la muestra	Peso de la muestra seca	Humedad (%)	Humedad promedio (%)
R1	1,0058	0,9131	9,22	9,39
R2	1,0352	0,9352	9,66	
R3	1,0077	0,9142	9,28	

Realizado por: Córdova, L. 2021.

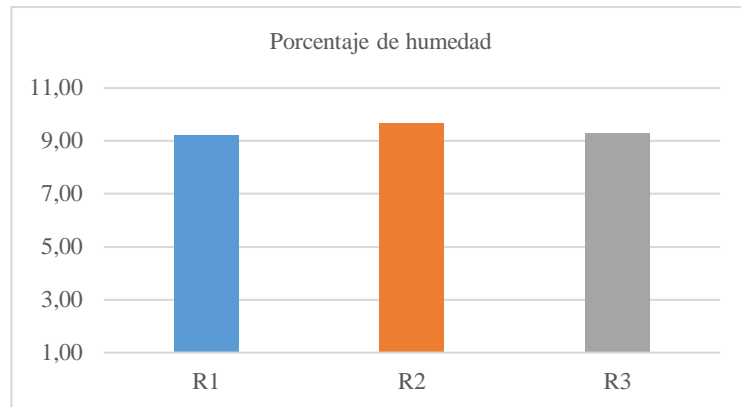


Gráfico 2-3: Porcentaje de humedad de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Tabla 8-3: Resultados del porcentaje de cenizas de la pectina

Número de repetición	Peso inicial de la muestra	Peso de la muestra calcinada	Ceniza (%)	Cenizas promedio (%)
R1	1,5142	1,3960	7,81	8,19
R2	1,5043	1,3838	8,01	
R3	1,5057	1,3739	8,75	

Realizado por: Córdova, L. 2021.

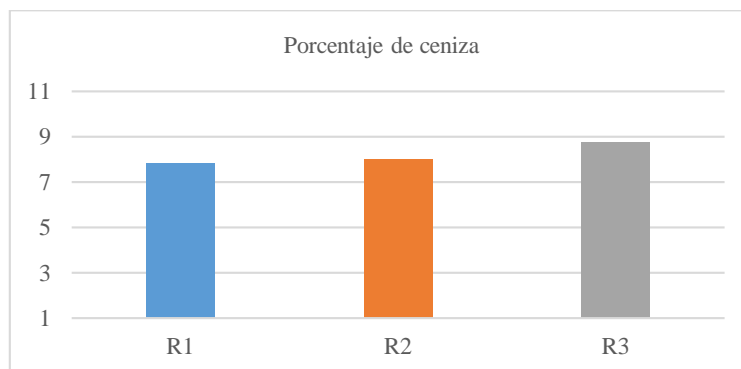


Gráfico 3-3: Porcentaje de cenizas de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

De acuerdo con los resultados obtenidos se tienen rangos para el porcentaje de humedad y cenizas que están entre 9,22 – 9,66 % y 7,81 – 8,75 % respectivamente, los mismos que se encuentran dentro de los parámetros estandarizados por la Food Chemicals Codex (1981) citada por Nizama (2015, p.27), que establece que el límite máximo de humedad para pectinas comerciales es de 12% mientras que el límite máximo de cenizas es de 10%; en comparación con el estudio realizado para pectinas de cascarilla de cacao, citado por Suarez y Orozco (2014, p.89), los datos obtenidos en el presente estudio son bajos puesto que en la investigación los autores reportan valores de 12,69 y 15,04% para humedad y ceniza respectivamente, mientras que al comparar con las cifras expresadas por Calderon (2017, pp.51,58) las cuales están entre 7,82 – 10,11 % para humedad y 7,42 – 9,76 % para cenizas, se puede observar que se obtuvieron datos muy similares a los que se consiguieron en la experimentación; mientras que al comparar con los valores reportados para otro tipo de pectina, en el estudio de caracterización de una pectina extraída de mango de azúcar por Barreto et al. (2017, p.79) que reporta valores de $4,51 \pm 0,80$ % para humedad y $1,71 \pm 1,13$ para cenizas, se puede evidenciar que los datos obtenidos para cada uno de los análisis están por encima de los citados previamente.

Tabla 9-3: Resultados del volumen utilizado en la titulación para el cálculo de las propiedades fisicoquímicas

Número de repetición	Volumen (ml)		Miliequivalentes	
	1ra titulación	2da titulación	1ra titulación	2da titulación
R1	1,20	3,10	0,12	0,31
R2	1,10	3,10	0,11	0,31
R3	1,20	3,20	0,12	0,32

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Tabla 10-3: Resultado de las propiedades fisicoquímicas titulables de la pectina de la cáscara de cacao

Número de repetición	% Metoxilos	% Grado de esterificación	Peso equivalente (mg/meq)	Acidez libre (meq/g)	% Ácido anhídrido galacturónico
R1	1,92	72,09	4166,67	0,24	15,14
R2	1,92	73,81	4545,45	0,22	14,78
R3	1,98	72,73	4166,67	0,24	15,49
Promedio	1,94	72,88	4292,93	0,23	15,14

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En la tabla 10-3 se reportan los valores obtenidos de porcentaje de metoxilos (%), grado de esterificación (%), peso equivalente (mg/meq), acidez libre (meq/g) y porcentaje de ácido anhídrido galacturónico (%), que fueron calculados mediante el método

volumétrico de Owens et al. (1952) los cuales se compararon con el estudio de extracción enzimática de pectina de la cáscara de cacao realizado por Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño (2017, p.195) , teniendo unos datos muy semejantes a los reportados por los autores que son 1,58 % 72%, 5091,4 mg/meq, 0,20 meq/g y 12,5% para cada uno de los ensayos antes mencionados respectivamente; donde el valor con más diferencia que se tiene es en el peso equivalente; pero en comparación con los valores obtenidos por Suarez y Orozco (2014, p.69) para pectinas de cáscara de cacao obtenidas a una temperatura de 95°C, pH 3 y un tiempo de 95 min, se observa que existe una gran diferencia, puesto que los autores reportan un valor de 2482,67 mg/meq para el peso equivalente, mientras que los otros datos mantienen una ligera diferencia, mismos que son de 2,5 % para el contenido de metoxilo, 66,67% para el grado de esterificación, 0,4 meq/g para la acidez libre y 21,27% para el contenido de ácido anhídrido galacturónico.

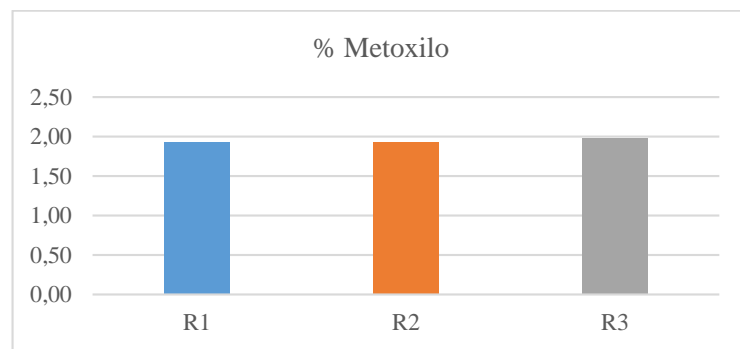


Gráfico 4-3: Porcentaje de metoxilos de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Los valores expresados en el gráfico 6-3, en el cual se observa que el porcentaje de metoxilos se encuentra en un rango de 1,92 – 1,98 % indican que se obtuvo una pectina de bajo metoxilo; ya que según lo establecido por la United States Pharmacopeia Convention (USP), para pectinas comerciales (2010) citado por Calderon (2017, p.65); establece como porcentaje mínimo para pectinas de alto metoxilo 6,7% y valores menores corresponden a pectinas de bajo metoxilo.

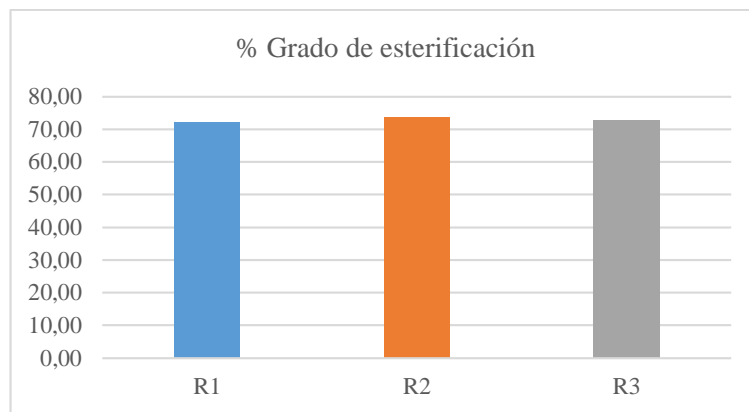


Gráfico 5-3: Porcentaje de esterificación de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En función a los resultados obtenidos para el porcentaje del grado de esterificación de la pectina de la cáscara de cacao de 72,09 – 73,81 %, se clasifica dentro del grupo de las pectinas de gelificación lenta puesto que el valor es inferior al 77% de acuerdo con lo reportado por Mendoza Vargas, Jiménez Forero y Ramírez Niño (2017, p.135).

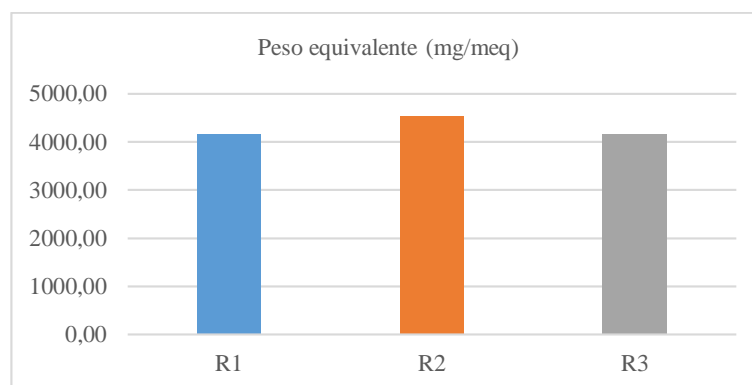


Gráfico 6-3: Peso equivalente de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En la gráfica 6-3 se representan los valores del peso equivalente de cada una de las repeticiones realizadas a la pectina de la cáscara de cacao, los cuales están entre el rango 4166,67 - 4545,45 mg/meq, donde se evidencia que los valores obtenidos son muy similares entre ellos, teniendo que en la repetición 1 y 2 se tienen los mismos resultados.

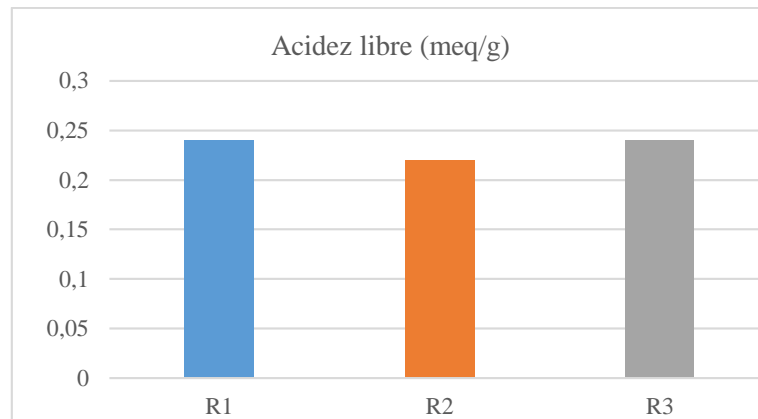


Gráfico 7-3: Acidez libre de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 7-3 representa la acidez libre de la pectina, misma que se encuentra en los rangos de 0,22 – 0,24, reflejándose una similitud muy estrecha entre los resultados puesto que en la repetición 1 y 3 se obtienen los mismos resultados.

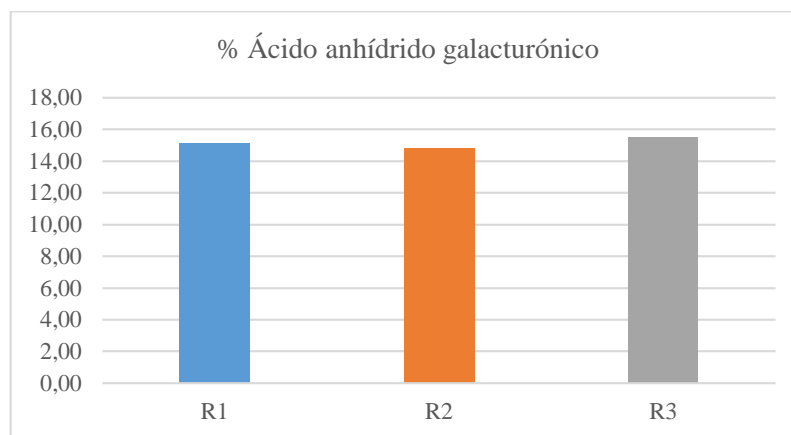


Gráfico 8-3: Porcentaje de ácido anhídrido galacturónico de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En el gráfico 8-3 se representa el porcentaje de ácido anhídrido galacturónico, donde se observa que los resultados obtenidos están en el rango de 14,78 – 15,49 %, existiendo una estrecha relación entre las tres repeticiones, con una similitud marcada entre los tratamientos R1 y R3.

Tabla 11-3: Resultados de la solubilidad y pH de la pectina de la cáscara de cacao

Número de repetición	Solubilidad	pH
R1	Positiva	3,86
R2	Positiva	3,13
R3	Positiva	3,79
Promedio		3,59

Realizado por: Córdova, L. 2021.



Gráfico 9-3: Solubilidad de la pectina de la cáscara de cacao
(*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 9-3 muestra los resultados del ensayo de solubilidad que se realizó de manera cualitativa en el mismo que se obtuvo una solubilidad positiva para las tres repeticiones, que va acorde con lo reportado por Nizama (2015, p.85).

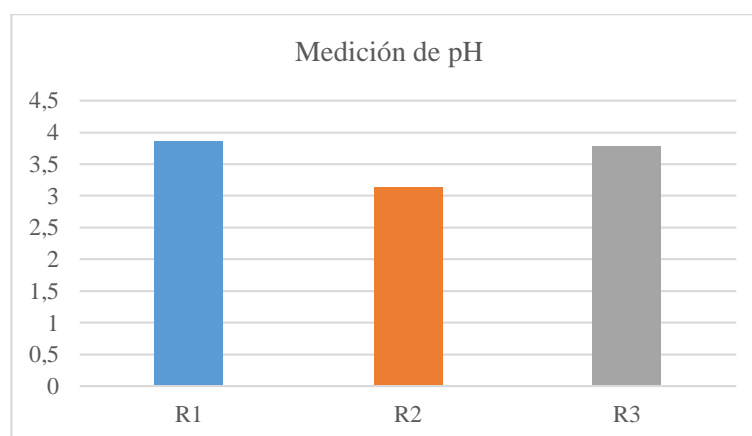


Gráfico 10-3: Resultados de pH de la pectina de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 10-3 indica los valores obtenidos en la medición de pH, mismos que están en un rango de 3,13 - 3,86, con un valor promedio de 3,59 evidenciando que las repeticiones guardan mucha relación entre sí, en especial los valores de R1 y R2; al comparar el promedio con el valor

reportado por Nizama (2015, p.85) de 3,00 para pH se observa que existe mucha proximidad entre los dos estudios.

Una vez realizados los ensayos por triplicado de caracterización fisicoquímica de la pectina de la cáscara de cacao se obtuvieron los siguientes resultados promedio:

Tabla 12-3: Resumen de las características fisicoquímicas de la pectina

Características fisicoquímicas de la pectina	
Humedad (%)	9,40
Cenizas (%)	8,19
Metoxilo (%)	1,94
Grado de esterificación (%)	72,88
Peso equivale (mg/meq)	4292,93
Acidez libre (meq/g)	0,23
Ácido anhídrido galacturónico (%)	15,14
Solubilidad	Positiva
pH	3,59

Realizado por: Córdova, L. 2021.

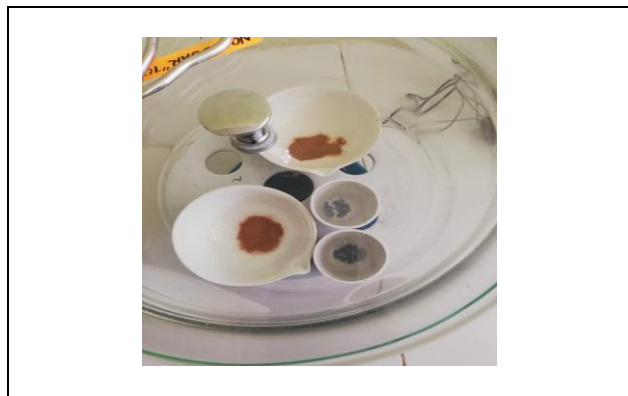


Figura 3-3: Determinación del porcentaje de humedad y cenizas de la pectina

Realizado por: Córdova, L. 2021.

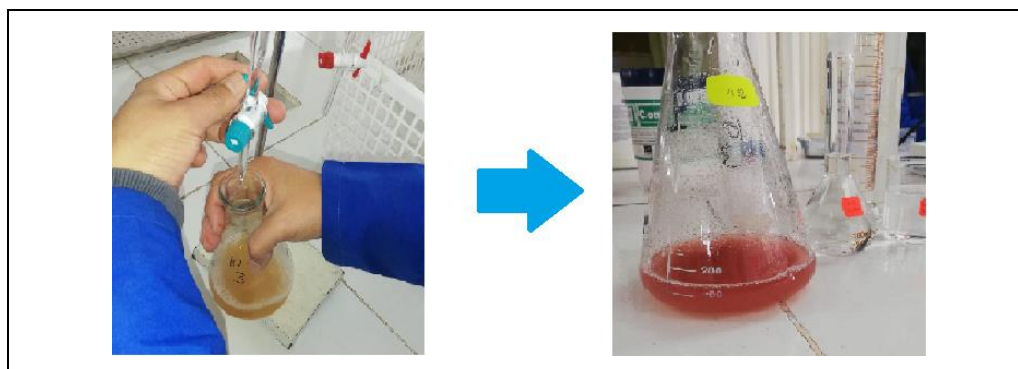


Figura 4-3: Titulación para determinación de propiedades fisicoquímicas de la pectina

Realizado por: Córdova, L. 2021.



Figura 5-3: Determinación de la solubilidad y pH de la pectina

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.7 Análisis del diseño experimental para la formulación de las biopelículas

Tabla 13-3: Variables del proceso de formulación de las biopelículas

Variables		
Pectina (CP)	CP1	1,00%
	CP2	3,00%
Glicerina (CG)	CG1	0,75%
	CG2	1,50%
Constantes		
Agua (ml)		75,00
Aceite esencial de limón (ml)		2,25

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Tabla 14-3: Ensayos preliminares para determinar la formación de las biopelículas

Tratamiento	Variables	Repetición	Transparencia	Forma de la película	Fácil de desmoldar	Estabilidad
TP1	CP1:CG1	R1	Translúcida	Si	No	Muy fina, frágil
		R2	Translúcida	Si	No	Muy fina, frágil
		R3	Translúcida	Si	No	Muy fina, frágil
		R4	Translúcida	Si	No	Muy fina, frágil
TP2	CP1:CG2	R1	Translúcida	Si	No	Quebradiza
		R2	Translúcida	Si	No	Quebradiza
		R3	Translúcida	Si	No	Quebradiza
		R4	Translúcida	Si	No	Quebradiza
TP3	CP2:CG1	R1	Translúcida	Si	Si	Estabilidad baja
		R2	Translúcida	Si	Si	Estabilidad baja
		R3	Translúcida	Si	Si	Estabilidad baja
		R4	Translúcida	Si	Si	Estabilidad baja

TP4	CP2:CG2	R1	Translúcida	Si	Si	Muy estable
		R2	Translúcida	Si	Si	Muy estable
		R3	Translúcida	Si	Si	Muy estable
		R4	Translúcida	Si	Si	Muy estable

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Una vez realizados los ensayos preliminares para la obtención de la formulación de las biopelículas se consigue que el tratamiento TP4 es el que ofrece mejores resultados, puesto que se obtienen biopelículas muy estables, resistentes y fáciles de desmoldar; al igual que en el tratamiento TP3 donde se lograron películas desmoldables, pero con una estabilidad muy baja en cuestión de fragilidad, mientras que en el tratamiento TP1 y TP2 se observaron películas quebradizas, imposibles de desmoldar, mismas que se adherían a las cajas Petri. Todas las formulaciones fueron de color marrón, con una apariencia translúcida.

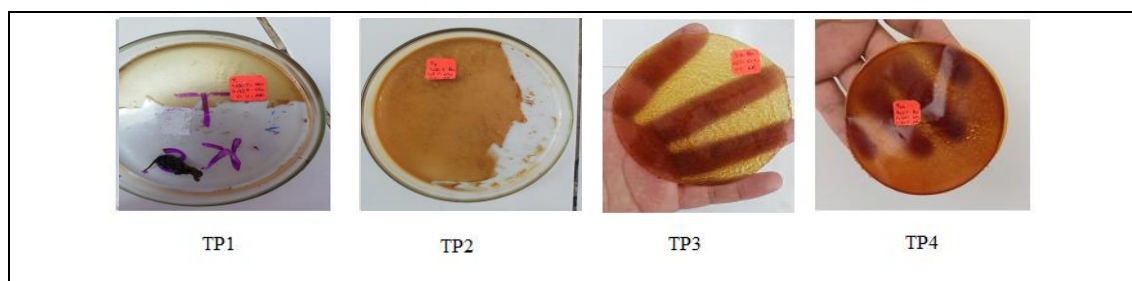


Figura 6-3: Ensayos de formulación de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.8 Resultados de humedad de las biopelículas

Una vez obtenida la formulación de idónea se realizó 3 réplicas para cada uno de los distintos ensayos de caracterización de las películas de bioplástico, entre ellos está el porcentaje de humedad teniendo los siguientes resultados:

Tabla 15-3: Resultados del porcentaje de humedad de las biopelículas

Tratamiento	Número de repetición	Peso inicial de la biopelícula	Peso de la biopelícula seca	Humedad (%)	Humedad promedio (%)
TP4	R1	0,328	0,283	13,72	13,21
	R2	0,330	0,289	12,42	
	R3	0,326	0,282	13,50	

Realizado por: Córdova, L. 2021.

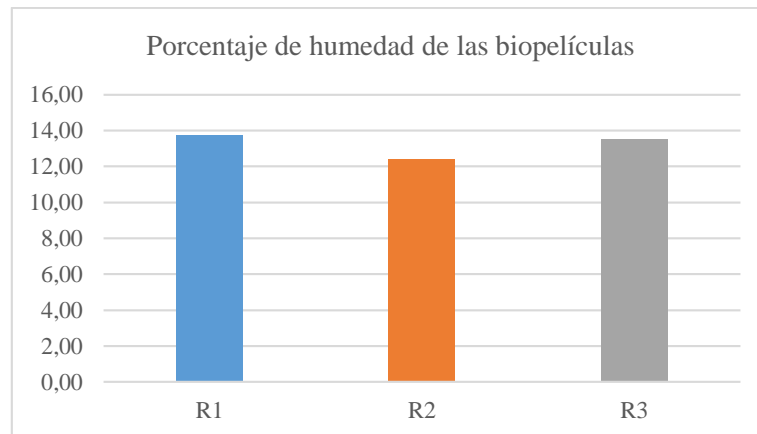


Gráfico 11-3: Porcentaje de humedad de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 11-3 refleja los resultados de la humedad de la biopelícula obtenida en el tratamiento TP4, donde se consigue un contenido de humedad de 13.72, 12.42 y 13.50% para las tres réplicas realizadas respectivamente, se puede observar que las biopelículas tienen una humedad muy uniforme debido a que fueron sometidas a la misma temperatura de secado (55°C) y de igual manera el tiempo de exposición a la estufa fue el mismo (24 h). Los valores obtenidos están dentro del límite máximo de aceptación de 13,5 % establecido por la AOAC (1995) citado por Fonseca (2020, p.25). Comparando con el resultado del estudio de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón mexicano, reportado por Sánchez Aldana et al. (2015, p.24) que fue de 11.18 %, se puede evidenciar que se obtienen datos muy cercanos, al igual que el valor de 12.56 % expresado por Del Aguila y Zegarra (2016, p.94) en su estudio para obtención de un prototipo de empaque alimentario a partir de pectina de cáscara de cacao, con el cual existe una estrecha relación. Además, al comparar con los resultados obtenidos en investigaciones con otras materias primas, como en el estudio de “Obtención de una película de bioplástico a partir del colágeno de las patas de pollo” realizado por Nuñez (2014, p.58) en el cual obtiene valores de contenido de humedad entre 17,43 – 45,86 % y con el porcentaje de humedad obtenido en el estudio de “Obtención de biofilm a partir del almidón de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) y de camote (*Ipomoea batatas*) como alternativa al uso de material plástico derivado de petróleo” reportado por Parra (2019, p.51) donde reporta valores de 15,49 -31,08 % para films a partir de zanahoria blanca y rangos entre 17,76 – 37,87 % para films de camote; se evidencia que se obtienen mejores resultados de humedad al formular biopelículas con extractos pécticos.



Figura 7-3: Caracterización del porcentaje de humedad de la biopelícula

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.9 Resultados del porcentaje de solubilidad de las biopelículas

Tabla 16-3: Resultados del porcentaje de solubilidad de las biopelículas

Tratamiento	Número de repetición	Peso inicial de la biopelícula	Peso de la final de la biopelícula	Solubilidad (%)	Solubilidad promedio (%)
TP4	R1	0,280	0,054	80,71	80,70
	R2	0,268	0,051	80,97	
	R3	0,296	0,058	80,41	

Realizado por: Córdova, L. 2021.

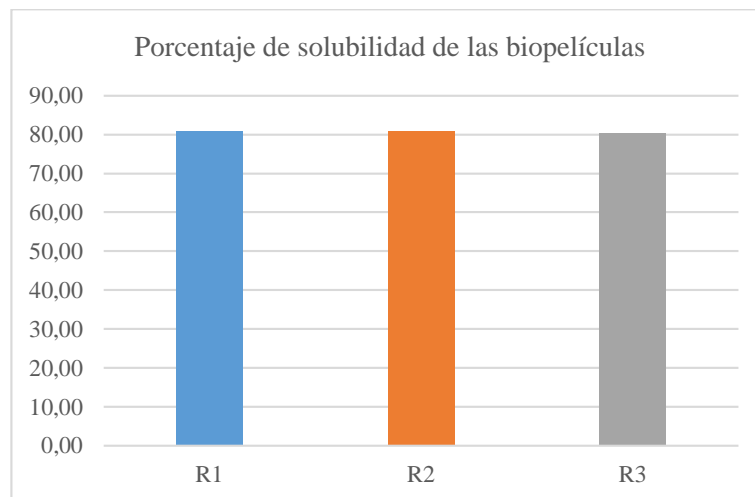


Gráfico 12-3: Porcentaje de solubilidad de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Al igual que los resultados de humedad, el porcentaje de solubilidad que se obtiene entre las réplicas guarda una estrecha relación, puesto que los datos obtenidos son muy similares, por lo cual se puede deducir en función a los datos que las biopelículas poseen una solubilidad relativamente alta, debido a esto la aplicación que se les otorga, es como recubrimiento de

alimentos destinados a cocción, puesto que de acuerdo con Zamudio (2014, p.40) las películas que se aplican para el almacenamiento de alimentos requieren una baja solubilidad, mientras que las películas con una solubilidad alta son muy ventajosas para el uso como recubrimiento de alimentos destinados a cocción.

Comparando con un estudio similar donde usan pectina de la cáscara de cacao para la obtención de biopelículas se obtiene resultados muy similares, puesto que Del Aguila y Zegarra (2016, p.94) obtuvo un valor de solubilidad de 84,23 %, también Escobar et al. (2011, p.35) obtuvo en su estudio un valor de solubilidad alto, el mismo que fue de 59,5 % para biopelículas a partir de suero láctico, al igual que Escobar (2020, p.44) que reporta un valor de 61,44% para biopelículas elaboradas con quitosano; mientras que Anchundia, Santacruz y Coloma (2016, p.398) en la elaboración de películas a partir de almidón de la cáscara de plátano obtuvo valores de solubilidad bajos que oscilan entre 7,21 – 27,57% .

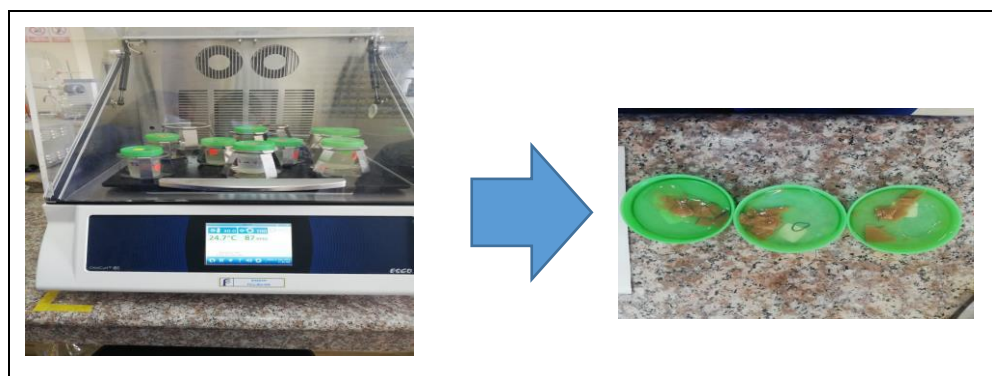


Figura 8-3: Caracterización de la solubilidad de la biopelícula

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.10 Resultados de las propiedades mecánicas de las biopelículas

Para la determinación de las propiedades mecánicas se realiza 3 réplicas del tratamiento TP4, que fue en el que se obtuvo biopelículas muy estables para elaborar las probetas y se consiguió los siguientes resultados:

Tabla 17-3: Propiedades mecánicas de las biopelículas

Pruebas mecánicas de las biopelículas						
Tratamiento	Repetición	Espesor (mm)	Tensión (N/m ²)	Carga máxima (N)	Esfuerzo máximo (MPa)	Elongación (%)
TP4	R1	0,10	820,00	4,10	3,42	40,00
	R2	0,15	813,33	6,10	3,38	42,50
	R3	0,17	811,76	6,90	3,38	42,50

Realizado por: Córdova, L. 2021.

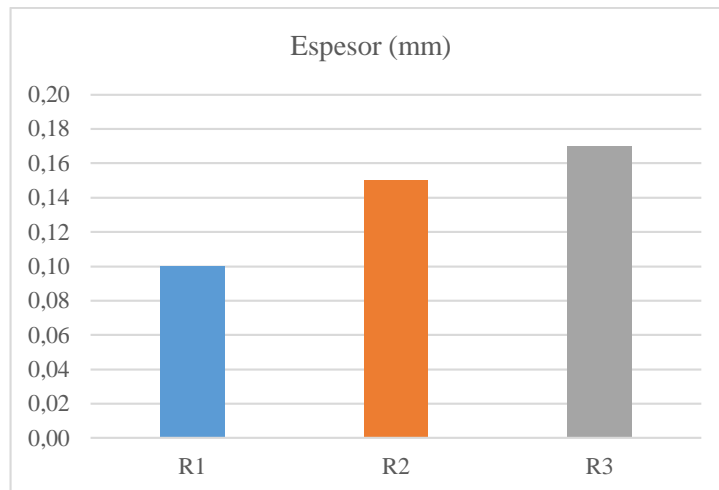


Gráfico 13-3: Espesor de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

De acuerdo con los resultados expuestos en el gráfico 13-3 se tienen los valores de espesor de las biopelículas entre 0,10 – 0,17 mm, los mismos que se encuentran dentro del rango que se establece en la NTE INEN 2636: Terminología relativa a plásticos degradables, en donde se especifica que el espesor nominal no debe ser superior a 0,25 mm para que la lámina de plástico sea considerada como una película (INEN 2012, p.5).

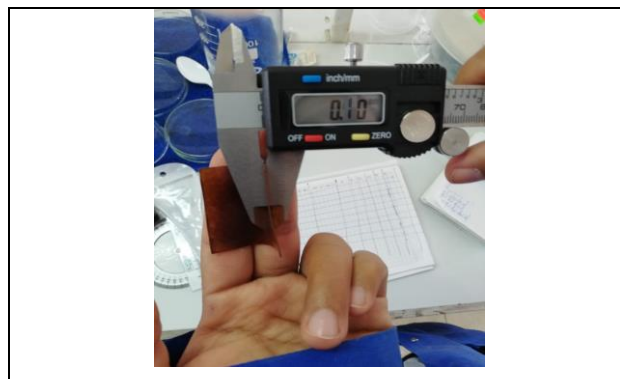


Figura 8-3: Medición del espesor de la biopelícula

Realizado por: Córdova, L. 2021.

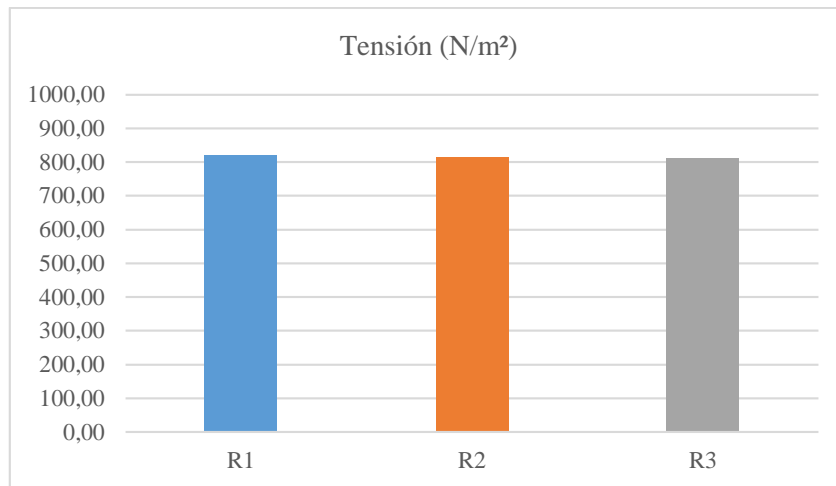


Gráfico 14-3: Resultado de la tensión de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 14-3 muestra que las biopelículas presentan una tensión que oscila entre 811,76 – 820,00 N/m², con valores muy similares; mismos que son muy altos en comparación con los reportados por González Cuello, Morón Alcázar y Taron Dunoyer (2016, p.187) que obtuvo valores entre 24,51 – 32,34 N/m² para biopelículas a base de K-Carragenato, mientras que se tiene similitud con los valores reportados por Parra (2019, p.53) que oscilan entre 598,5 – 821,7 N/m².

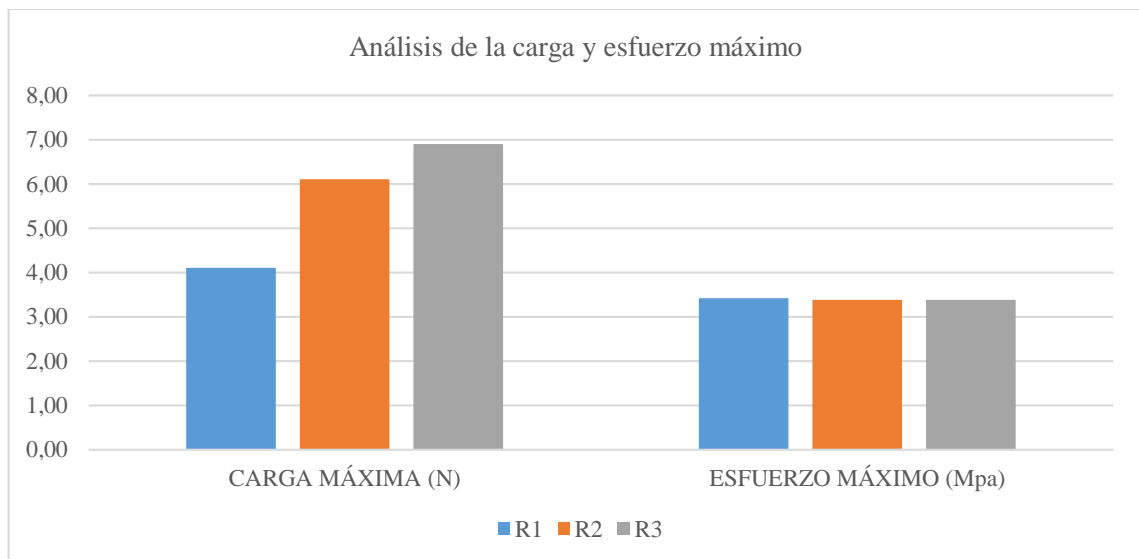


Gráfico 15-3: Análisis de la carga y esfuerzo máximo de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En el gráfico 15-3 se indica los resultados de carga máxima y esfuerzo máximo que están en un rango de 4,10 – 6,90 N y 3,38 – 3,42 MPa respectivamente, donde se puede evidenciar que los valores de R2 y R3 guardan mucha relación para carga máxima, mientras que para el esfuerzo las tres repeticiones reportan datos muy parecidos entre sí. Se encuentra que los datos de carga

máxima obtenidos están por debajo a los reportados por Llerena y Monzón (2017, p.66) que se hallan entre 10,98 – 18,04 N para películas a base de arroz quebrado, pero guardan relación con los datos reportados por Anchundia, Santacruz y Coloma (2016, p.397) mismos que fluctúan entre 4,43 – 6,93 N para películas a base de cáscara de plátano; igualmente se identifica que el esfuerzo máximo conseguido es análogo a los valores obtenidos por Sánchez y Valdez (2019, p.51) los mismos que están entre 2,4 – 5,1 MPa para biopelículas activas a base de almidón de yuca y aceite esencial de romero.

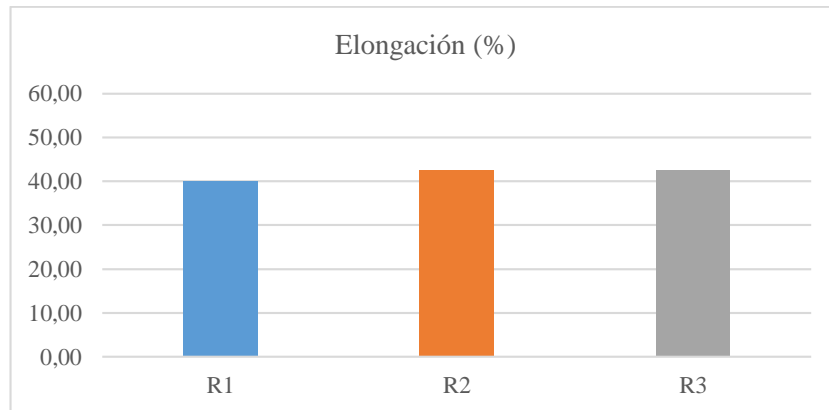


Gráfico 16-3: Análisis de la elongación de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 16-3 presenta la relación que guardan las biopelículas en función de la elongación, donde se puede observar que las tres réplicas reflejan resultados muy similares, mismos que fluctúan en el rango de 40,00 – 42,50%, que al comparar con los resultados reportados por Sánchez y Valdez (2019, p.51) de las 29,4 – 38,1 % para biopelículas activas a base de almidón de yuca y aceite esencial de romero, se puede evidenciar que se obtiene datos muy similares en las investigaciones.

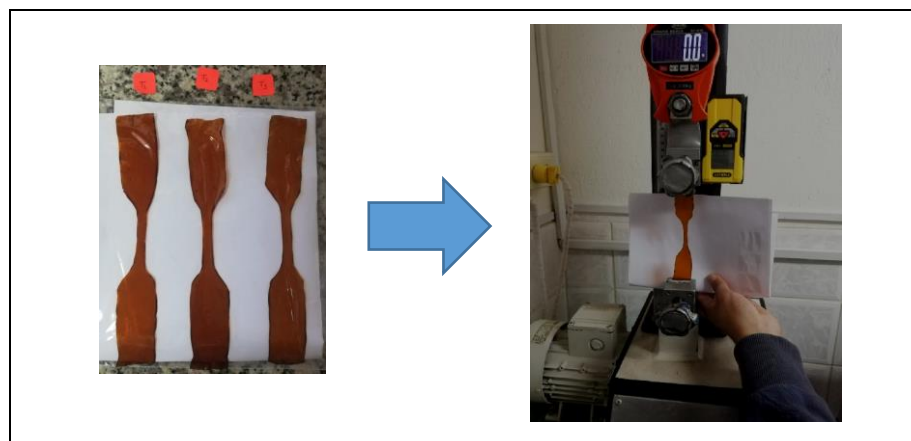


Figura 9-3: Pruebas mecánicas de las biopelículas

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.11 Análisis de la permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Tabla 18-3: Datos para permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Tratamiento	Repetición	Espesor de la película (mm)	Diámetro del tubo (mm)	Peso de la película (g)	Peso del tubo + película (g)
TP4	R1	0,10	14,08	0,1307	23,5279
	R2	0,15	13,78	0,1754	22,0196
	R3	0,17	13,63	0,2279	30,0291

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

Tabla 19-3: Resultados de la medición de peso para permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Tratamiento	Repetición	Peso inicial (g)	Tiempo en horas					
			1	2	3	4	5	6
TP4	R1	23,5279	23,5250	23,5279	23,5297	23,5309	23,5300	23,5362
	R2	22,0196	22,0161	22,0188	22,0206	22,0220	22,0236	22,0256
	R3	30,0291	30,0250	30,0270	30,0278	30,0291	30,0313	30,0344

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

Tabla 20-3: Resultados para la permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Tratamiento	Repetición	Espesor de la película (m)	Área (m ²)	Pendiente (g/s)	ΔP_v (Pa)	Permeabilidad al vapor de agua (g/m·s·Pa)	
						Repeticiones	Promedio
TP4	R1	0,00010	0,00015570	5,75E-07	3167,2	1,17E-10	1,52E-10
	R2	0,00015	0,00014914	5,02E-07		1,60E-10	
	R3	0,00017	0,00014591	4,85E-07		1,79E-10	

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

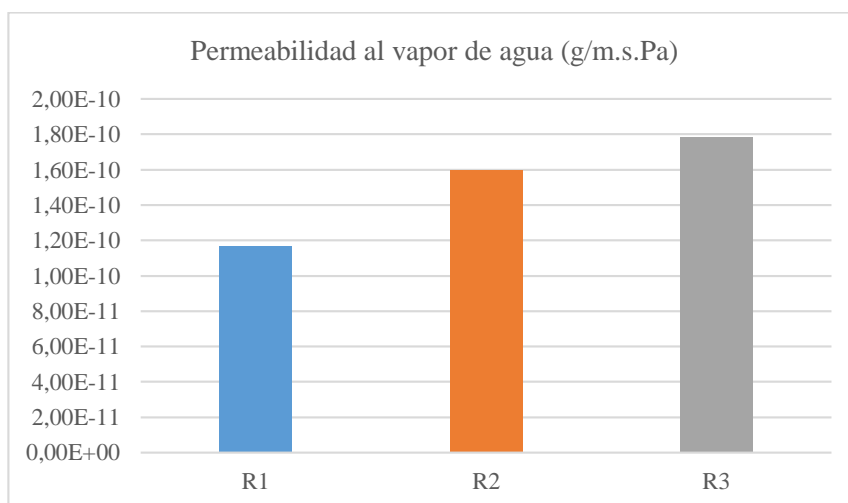


Gráfico 17-3: Permeabilidad al vapor de agua

Realizado por: Córdoba, L. 2021.

En función a lo representado en la gráfica 17-3 se puede observar que respecto a la permeabilidad al vapor de agua se obtiene datos similares a los reportados por Sánchez Aldana et al. (2015, p.22) que es de $5,17 \text{ E-}11 \text{ g/m.s.Pa}$ para biopelículas a partir de extractos pécticos y valores menores a los expresados por Arévalo et al. (2010, p.129) de $1,61 \text{ E-}05 \text{ g/m.s.Pa}$ para biopelículas a partir de residuos cítricos.



Figura 10-3: Permeabilidad al vapor de agua

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.12 Análisis de la biodegradabilidad de las biopelículas

3.1.12.1 Análisis de biodegradabilidad de las biopelículas en suelo (vía anaerobia)

Tabla 21-3: Datos del área de las biopelículas para biodegradabilidad en suelo

Tratamiento	Repetición	Área inicial (mm)	Pérdida de área (mm)					
			Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25	Día 30
TP4	R1	952,010	785,801	689,940	637,892	630,942	511,456	499,889
	R2	909,758	806,458	675,798	646,874	614,749	587,582	553,689
	R3	932,674	865,239	837,916	801,023	674,512	635,152	592,730

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Tabla 22-3: Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas en suelo

Tratamiento	Repetición	Biodegradabilidad (%)					
		Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25	Día 30
TP4	R1	17,46	27,53	29,21	33,73	46,28	47,49
	R2	11,35	25,72	28,90	32,43	35,41	39,14
	R3	7,23	10,16	14,12	27,68	31,90	36,45

Realizado por: Córdova, L. 2021.

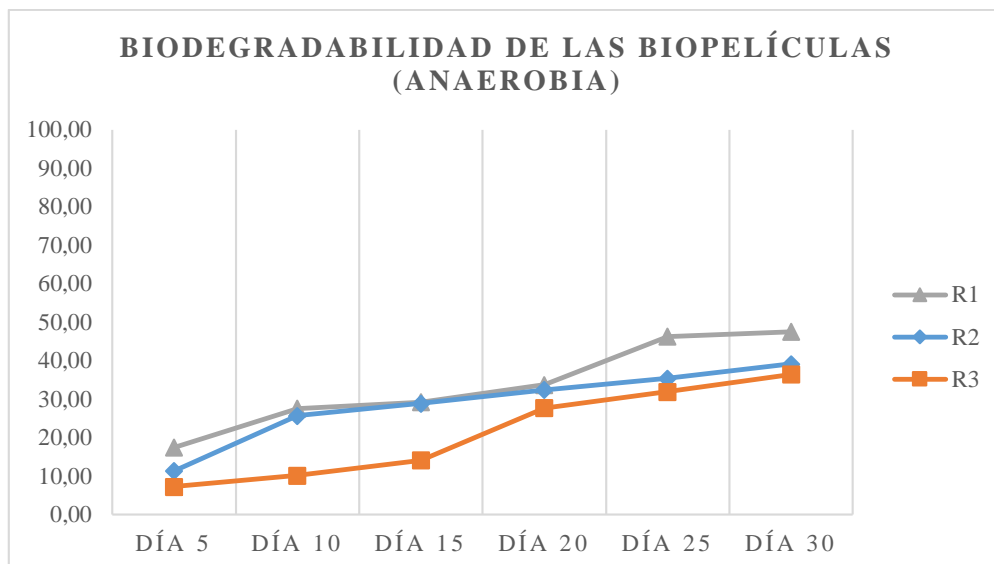


Gráfico 18-3: Tasa de biodegradabilidad de las biopelículas (vía anaerobia)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

El gráfico 18-3 muestra el porcentaje de biodegradabilidad de las biopelículas en suelo, ensayo que se realizó mediante una recopilación fotográfica, las mismas que fueron analizadas con el programa Imagen J, para analizar la disminución del área y así calcular el porcentaje de biodegradabilidad por diferencia de áreas. La prueba se realizó en un periodo de 30 días, tomando datos cada 5 días, obteniendo un rango de biodegradabilidad 36,45 – 47,49 % al finalizar el experimento, valores similares a los obtenidos por Parra (2019, p.59) que son de 30,64% para películas a base de zanahoria blanca y camote en un periodo de 21 días, a diferencia del resultado obtenido por Del Aguila y Zegarra (2016, p.94), que fue de 35,87% en un lapso de 5 días se observa que el recubrimiento a base de pectina de la cáscara de cacao realizado en su estudio se biodegrada con mayor rapidez, lo que se puede intuir que la adición de aceite esencial de limón ayuda a mitigar el pronto ataque de los microorganismos.

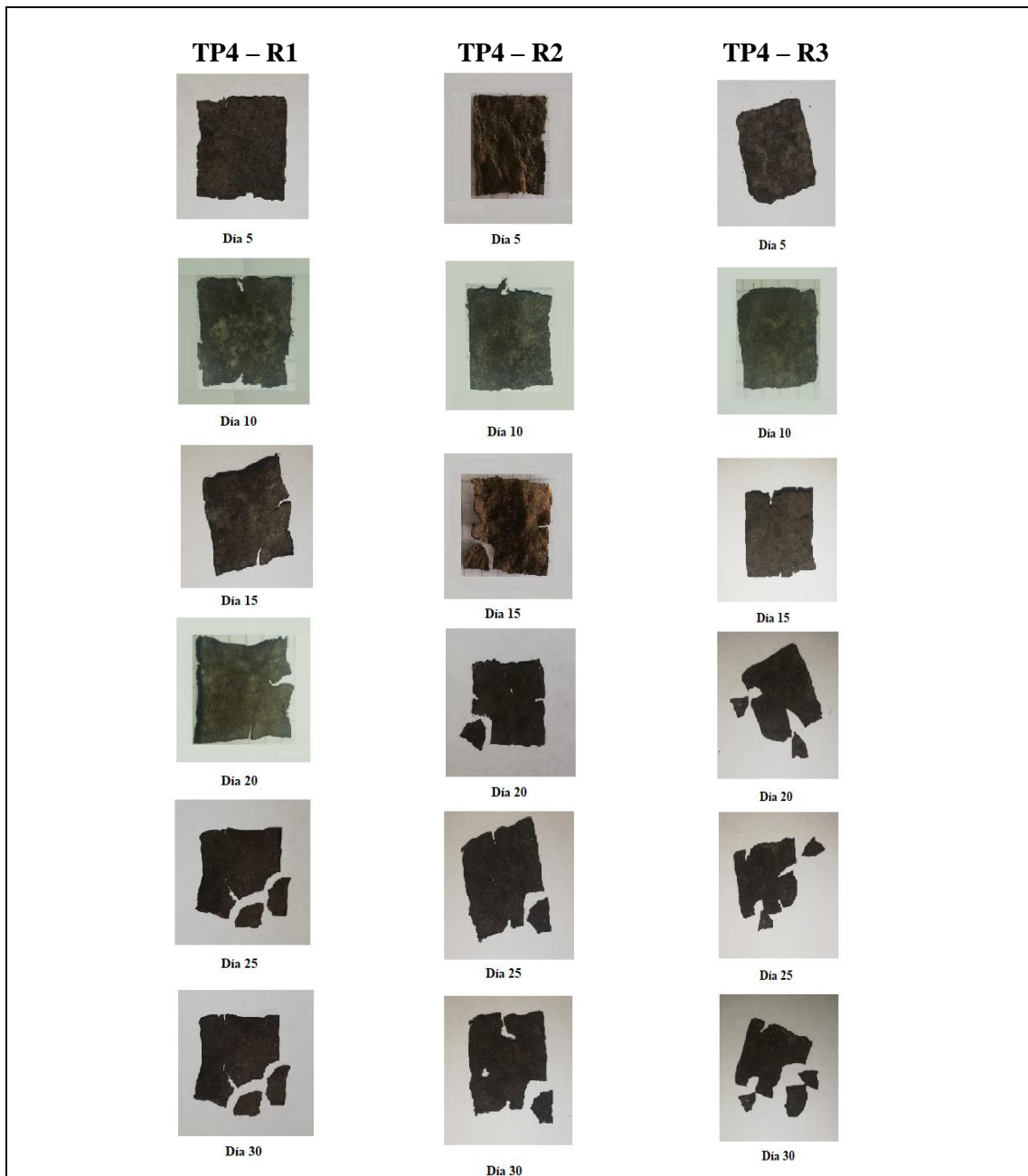


Figura 11-3: Biodegradabilidad de las biopelículas (vía anaerobia)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.12.2 Análisis de biodegradabilidad mediante vía aerobia

Tabla 23-3: Datos de peso de las biopelículas para biodegradabilidad aerobia

Tratamiento	Repetición	Peso inicial (g)	Pérdida de peso (g)					
			Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25	Día 30
TP4	R1	0,304	0,296	0,293	0,288	0,281	0,277	0,272
	R2	0,318	0,312	0,309	0,304	0,298	0,295	0,289
	R3	0,373	0,368	0,362	0,358	0,349	0,344	0,338

Realizado por: Córdova, L. 2021.

Tabla 24-3: Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia)

Tratamiento	Repetición	Biodegradabilidad (%)					
		Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25	Día 30
TP4	R1	2,63	3,62	5,26	7,57	8,88	10,53
	R2	1,89	2,83	4,40	6,29	7,23	9,12
	R3	1,34	2,95	4,02	6,43	7,77	9,38

Realizado por: Córdova, L. 2021.

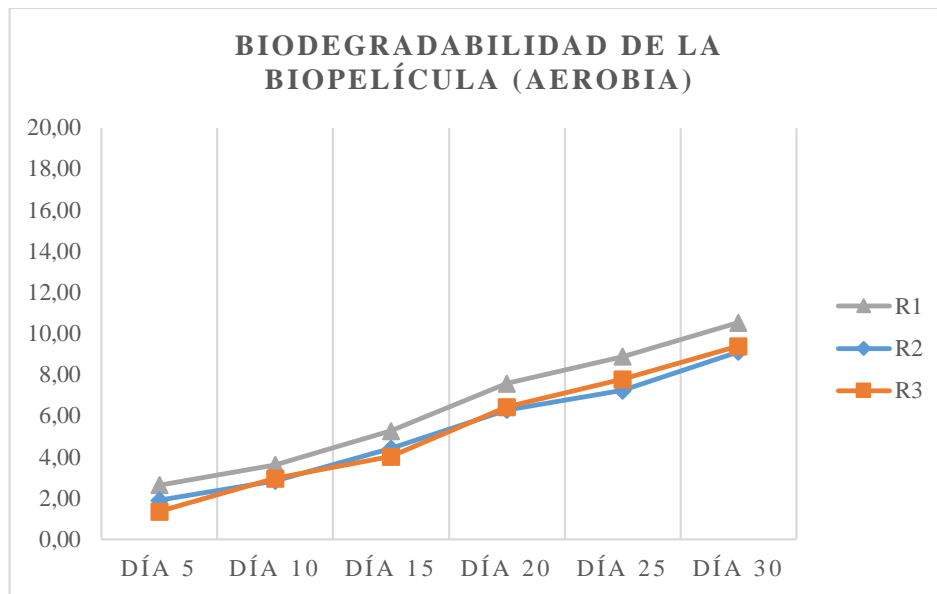


Gráfico 19-3: Tasa de biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En el gráfico 19-3 se muestra la tasa de biodegradabilidad de las biopelículas que fueron expuestas al aire ambiente, donde se obtuvo valores que oscilan entre 9,12 -10,53 % teniendo una biodegradabilidad muy similar en las 3 repeticiones; observando que la velocidad de degradación en relación con la de las biopelículas expuestas al compost es más lenta, por lo cual se puede prever que pueden ser utilizadas para conservar alimentos en ambientes secos.

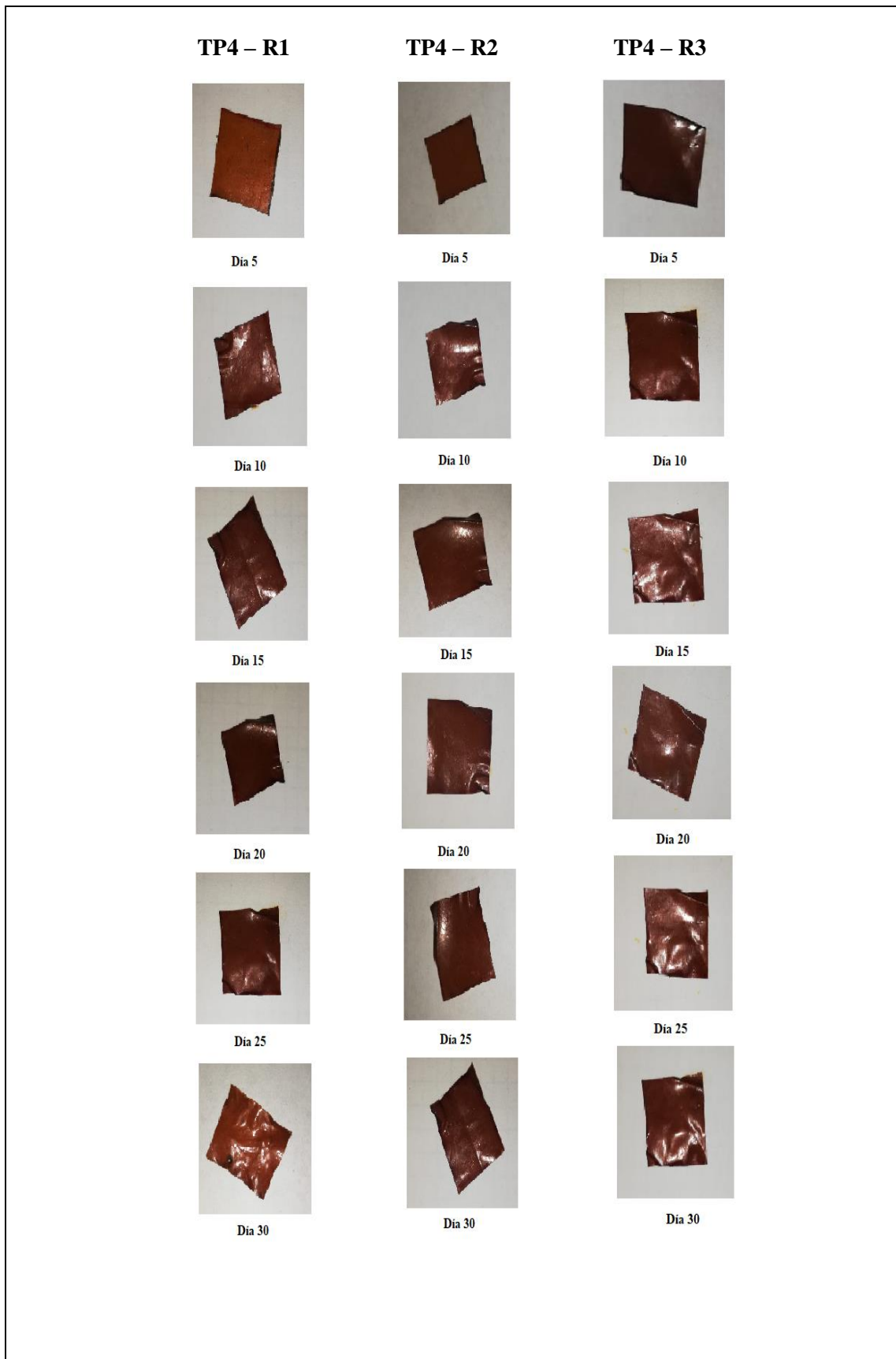


Figura 12-3: Biodegradabilidad de las biopelículas (vía aerobia)

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.12.3 Análisis de biodegradabilidad en agua

Tabla 25-3: Resultados de biodegradabilidad de las biopelículas en agua

Tratamiento	Repetición	Peso inicial (g)	Pérdida de peso (g)		Biodegradabilidad (%)	
			Día 5	Día 10	Día 5	Día 10
TP4	R1	0,345	0,066	0	80,87	100
	R2	0,339	0,054	0	84,07	100
	R3	0,316	0,059	0	81,33	100

Realizado por: Córdova, L. 2021.

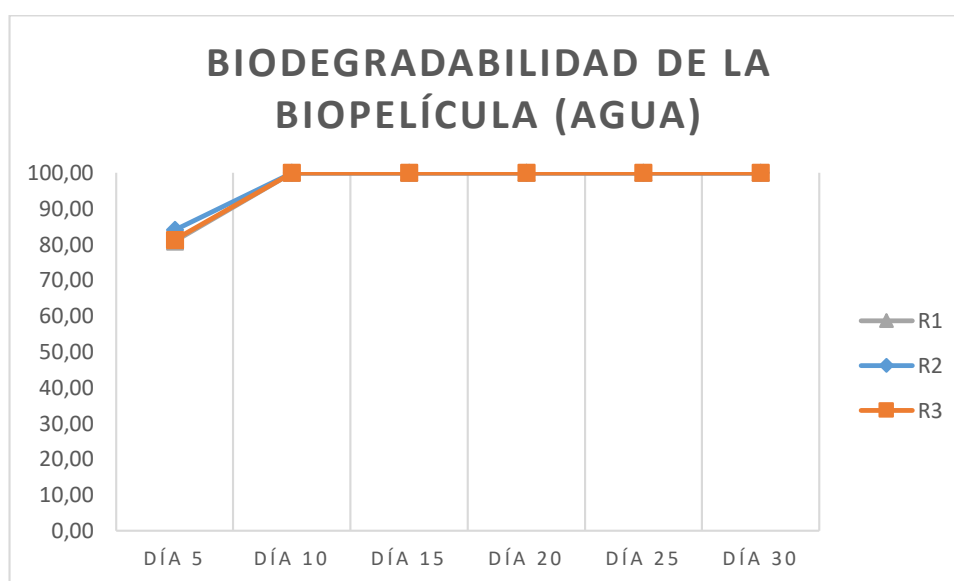


Gráfico 20-3: Biodegradabilidad de las biopelículas en agua

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En función a los resultados presentados en el gráfico 20-3 se puede observar que las biopelículas se degradan con facilidad al estar en contacto con el agua, puesto que en el día 5 ya se alcanza un porcentaje de biodegradabilidad de 80,87 – 84,07% lo cual va de acorde con el porcentaje de solubilidad mismo que indica que las biopelículas son muy solubles, y es así que al llegar al día 10 se consigue una degradación completa en las tres repeticiones.

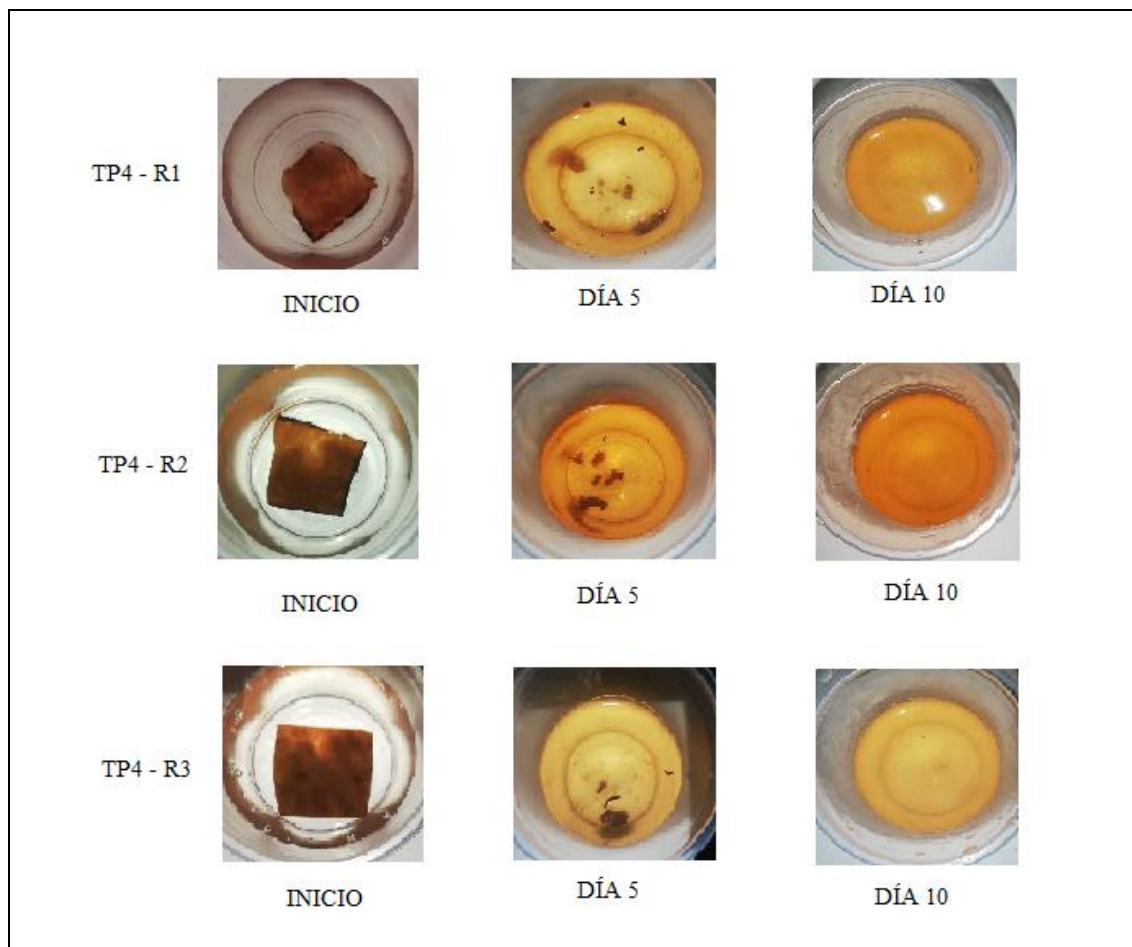


Figura 13-3: Biodegradabilidad de las biopelículas en agua

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.1.13 Análisis microbiológico de las biopelículas

Tabla 26-3: Resultados de las pruebas microbiológicas

Tratamiento	Repetición	Pruebas microbiológicas (UFC)		
		Coliformes totales	Coliformes fecales (<i>E. coli</i>)	Mohos y levaduras
TP4	R1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	R2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	R3	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado por: Córdova, L. 2021.

En la tabla 26-3 se refleja el resultado de los análisis microbiológicos que se realizaron a las biopelículas en el laboratorio SAQMIC ubicado en la ciudad de Riobamba, a cargo de la Dra. Gina Álvarez, para lo cual se prepararon muestras 2 g por cada tratamiento, las mismas que se entregaron cortadas en cuadraditos muy pequeños; previamente las muestras fueron manipuladas de tal forma que se pueda evidenciar el poder antimicrobiano que ejerce el aceite esencial de limón sobre las películas de plástico. Se prueba que todas las muestras del tratamiento TP4

presentan inhibición microbiana para cada uno de los ensayos, donde de acuerdo con Epinel (2020, p.47) expone en su estudio que el aceite esencial de limón inhibe el crecimiento de *E. coli* luego de evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón frente a diferentes antibióticos comerciales; mientras que Scalvenzi et al. (2016, p.48) en la evaluación de aceite esencial de limón en la conservación de carne de cuy, determina que el aceite esencial de limón inhibe el desarrollo de dos patógenos *S. typhimurium* y *E. coli*, además presenta actividad antifúngica inhibiendo el crecimiento de los hongos *C. cladosporoides* y *F. solani*. En concordancia con los estudios citados se ha demostrado que el aceite esencial de limón tiene poder antibacteriano y antifúngico.

3.2 Prueba de Hipótesis

3.2.1 Hipótesis 1

A partir de la cáscara de cacao se obtuvo pectina mediante el método de hidrólisis ácida y precipitación alcohólica; empleando un diseño factorial 2^k se consiguió 4 tratamientos, donde se varió el nivel de pH (2 y 3) y el tipo de ácido (ácido clorhídrico y ácido cítrico); para el T₁ y T₂ se empleó ácido clorhídrico a pH de 2 y 3 respectivamente y los tratamientos T₃ y T₄ se hidrolizaron con ácido cítrico a pH 2 y 3 correspondientemente. La hidrólisis se realizó con 35 g de polvo de cacao y 560 ml de agua acidulada, posteriormente se precipito con alcohol al 96% en una relación 1:1, obteniéndose los siguientes resultados:

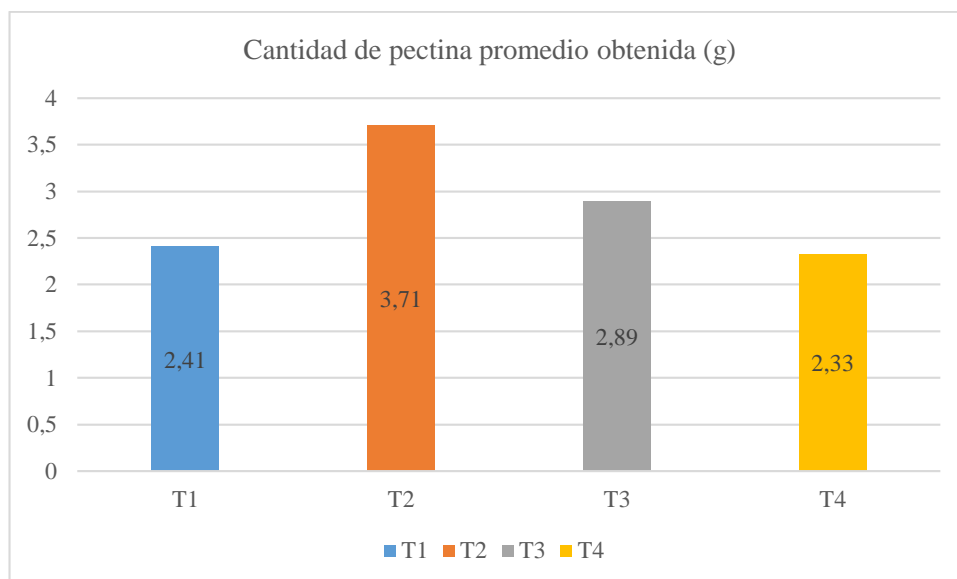


Gráfico 21-3: Cantidad de pectina promedio obtenida

Realizado por: Córdova, L. 2021.

3.2.2 Hipótesis 2

En función a la tabla 2-3 se muestra que la variación del ácido y pH en el proceso de hidrólisis influyen en la cantidad de pectina obtenida, observándose que al emplear agua acidulada con ácido clorhídrico a pH 3, se obtiene un promedio de 3,71 g de pectina que en función con los demás tratamientos es el que mayor rendimiento presenta.

3.2.3 Hipótesis 3

Las tablas 14-3 y 17-3 muestran que la modificación del porcentaje de pectina y glicerina influyen en las propiedades mecánicas de las biopelículas, tal como es la elasticidad; donde se observa que los porcentajes adecuados para la formulación de la biopelícula es 3% de pectina y 1,5% de glicerina.

3.2.4 Hipótesis 4

Con el análisis microbiológico de las biopelículas, se observó que la adición de aceite esencial de limón ayuda a mitigar el crecimiento de microorganismos; mediante la tabla 26-3 se muestra que al agregar el 3% de aceite esencial en la formulación, las biopelículas muestran ausencia de coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras.

CONCLUSIONES

- La obtención de la biopelícula se realizó a partir de un diseño experimental 2^k , variando el porcentaje de pectina obtenida a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) y glicerina, obteniendo un total de 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, de los cuales solo se aceptó 1 formulación, misma que fue sometida a las pruebas de caracterización mediante análisis proximal para determinar el porcentaje de humedad, además se evaluó la solubilidad, las propiedades físico mecánicas y de barrera, pruebas microbiológicas y ensayo de biodegradabilidad.
- El proceso de extracción de la pectina a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) se realizó a partir de hidrólisis ácida y precipitación alcohólica, empleando ácido clorhídrico y ácido cítrico a pH 2 y 3 para la hidrólisis en una relación 1:16 y en la precipitación alcohólica se utilizó etanol al 98% en una relación 1:1, esto se llevó a cabo mediante un diseño experimental factorial 2^k , donde se trabajó con 4 tratamientos y 4 réplicas para cada uno de ellos, obteniendo que el tratamiento en el que se alcanza un mayor rendimiento fue el T₂ con un valor de 10.60%, por lo cual se determina que las mejores condiciones de hidrólisis son el ácido clorhídrico y un pH 3.
- Una vez obtenido el mejor rendimiento se realizó la caracterización de la pectina, mediante análisis proximal se determinó el porcentaje de humedad y cenizas, teniendo un resultado de 9.40 y 8.19% respectivamente, valores que están dentro del rango especificado por el estándar que regula las pectinas comerciales, además se realizó la caracterización fisicoquímica mediante análisis gravimétrico, donde se determinó el peso equivalente, acidez libre, porcentaje de metoxilo, grado de esterificación y porcentaje de ácido anhídrido galacturónico, obteniendo valores de 4292.93 mg/meq, 0.23 meq/g, 1.94%, 72.88% y 15.14% correspondientemente, calificando así a la pectina obtenida como pectina de bajo metoxilo y gelificación lenta; finalmente cualitativamente se evaluó la solubilidad teniendo como resultado positivo y mediante potenciometría con el uso del pH-metro se determinó el pH que fue de 3,59.
- La formulación para las biopelículas que reportó mejores resultados fue TP4, determinando así que los niveles adecuados de pectina y glicerina son de 3 y 1.5% para obtener biopelículas resistentes, flexibles y fáciles de desmoldar, además se observó que el aceite esencial de limón no afecta a las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de barrera de las biopelículas, pero si les confiere un poder de acción antimicrobiano y antifúngico.
- El análisis físico–mecánico determinó que las biopelículas pueden ser usadas como recubrimientos de alimentos destinados a la cocción, debido a su alto nivel de solubilidad que fue de 80,70%, mediante las pruebas microbiológicas se pudo evidenciar que el aceite esencial

de limón (*Citrus limón*) aporta características antimicrobianas a las biopelículas, puesto que inhiben el ataque de *E. coli*, de hongos y levaduras.

RECOMENDACIONES

- Para experimentar mejores rendimientos en cuanto a la extracción de pectina, realizar pruebas de hidrólisis ácida, utilizando ácido láctico, tal como lo emplean otros investigadores.
- Experimentar con diferentes rangos de temperatura y tiempo de hidrólisis para analizar la variabilidad que se produce en el rendimiento de la pectina.
- Luego del proceso de precipitación alcohólica se recomienda recuperar el etanol utilizado para optimizar los costos.
- Al momento de triturar la pectina obtenida se recomienda realizar el proceso con trituradores eléctricos con la finalidad de alcanzar mejores resultados.
- Evaluar la viabilidad económica y técnica para la instalación de una planta productora de pectina a partir de los residuos del cacao.
- Para mejorar la propiedad de permeabilidad al vapor de agua y aumentar el tiempo de vida de las biopelículas es necesario ensayar con otros tipos de plastificantes, conservando las propiedades de biodegradabilidad.
- Se recomienda realizar una espectroscopia de masas, espectroscopia infrarroja y espectroscopia de barrido para tener una idea más real y clara de cómo está configurada la biopelícula obtenida.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, S.M. y ESPIN, D.L., 2019. *Producción y caracterización de un biopolímero obtenido a partir de residuos agroindustriales del cacao (CCN-51)* [en línea]. S.l.: Universidad de Guayaquil. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39844/1/401-1345> - Biopolimero a partir de residuos agroindustriales del cacao.pdf.

ANCHUNDIA, K., SANTACRUZ, S. y COLOMA, J., 2016. Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa Paradisiaca*). *Revista Chilena de Nutricion*, vol. 43, no. 4, pp. 394-399. ISSN 07177518. DOI 10.4067/S0717-75182016000400009.

AOAC, 1995. Official methods of analysis. [en línea]. Washington DC: Disponible en: https://openlibrary.org/publishers/AOAC_International.

ARÉVALO, K., ALEMÁN, M.E., ROJAS, M.G. y MORALES, L., 2010. Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos : propuesta de empaques activos. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* [en línea], vol. 1, no. 2, pp. 124-134. Disponible en: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/16449909/arevalo_et_al_revlatinoambiotecnolambgal_v1n2.pdf?1339015454=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPeliculas_biodegradables_a_partir_de_res.pdf&Expires=1605128831&Signature=eF~mYV50rNoVi4Okuxom.

BARRETO, G., PÚA, A.L., DE ALBA, D. y PIÓN, M., 2017. Extracción y caracterización de pectina de mango de azúcar (*Mangifera indica L.*). *Temas Agrarios*, vol. 22, no. 1, pp. 79-86. ISSN 2389-9182. DOI 10.21897/rta.v22i1.918.

BETANCOURT, L.D. y LLANO, J.E., 2009. *Extracción De Pectinas a Partir De Los Subproductos Del Beneficio Del Cacao* [en línea]. S.l.: Universidad EAFIT. Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/341/LucasDaniel_BetancourtLatorre_2009.pdf?sequence=1.

CALDERON, K., 2017. *Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de cacao (Theobroma cacao L.) variedad CCN-51 procedente del distrito de Pajarillo - provincia de Mariscal Cáceres* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto. Disponible en: [http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3024/ADMINISTRACION - Pamela Jhosymar Valles Vásquez %26 Martha Ruth Guerra Pinedo.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3024/ADMINISTRACION%20-%20Pamela%20Jhosymar%20Valles%20Vásquez%20Martha%20Ruth%20Guerra%20Pinedo.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

CASTILLO, E., ALVAREZ, C. y CONTRERAS, Y., 2018. Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) Cosechados en Caucagua, estado Miranda. Venezuela. *Revista de Investigación* [en línea], vol. 42, no. 95, pp. 1-11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/3761/376160247008/376160247008.pdf>.

CHAPUEL, A. y REYES, J., 2019. *Obtención de una película biodegradable a partir de los almidones de semilla de aguacate (Persea americana Mill) y banano (Musa acuminata AAA) para el recubrimiento de papaya* [en línea]. S.l.: Universidad de Guayaquil. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39933/1/401-1355> - Obtenc película biodegradable partir almidones semilla de aguacate.pdf.

CHARRO, M.M., 2015. *Obtención de plástico biodegradable a partir de almidón de patata* [en línea]. S.l.: Universidad Central del Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/3788/1/T-UCE-0017-97.pdf>.

CHÁVEZ PORRAS, Á. y RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, A., 2016. Aprovechamiento de residuos orgánicos agrícolas y forestales en Iberoamérica. *Academia y Virtualidad*, vol. 9, no. 2, pp. 90-107. ISSN 2011-0731. DOI 10.18359/ravi.2004.

COBEÑAS, A. y GUERRERO, J., 2018. *Caracterización de la pectina obtenida a partir de la cáscara de cacao (Theobroma cacao L.) mediante variación del ácido y temperatura* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional de Tumbes. Disponible en: [http://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/UNITUMBES/1042/QUILICHE CABANILLAS%20IRMA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/UNITUMBES/1042/QUILICHE%20CABANILLAS%20IRMA.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

DEL AGUILA, D. y ZEGARRA, D., 2016. *Extracción de pectina por hidrólisis ácida y precipitación alcohólica a partir de las cáscaras de cacao híbrido ccn51 (Theobroma cacao L.) para la fabricación de un prototipo de empaque alimentario.* [en línea]. S.l.: Universidad Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Disponible en: <http://repositorio.unia.edu.pe/bitstream/unia/103/1/TESIS.pdf>.

EPINEL, A.J., 2020. *Actividad antimicrobiana del aceite Esencial de tres especies de Citrus limon contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus* [en línea]. S.l.: Universidad Agraria del Ecuador. Disponible en: [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/EPINEL OBREGOSO ANDREA JUDITH.pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/EPINEL%20OBREGOSO%20ANDREA%20JUDITH.pdf).

ESCOBAR, D., SALA, A., SILVERA, C., HARISPE, R. y MÁRQUEZ, R., 2011. Películas

biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo : estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay, INNOTEC* [en línea], vol. 0, no. 4, pp. 33-36. ISSN 1688-3691. Disponible en: <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/article/view/51>.

ESCOBAR, J.A., 2020. *ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BIOPELÍCULAS ELABORADAS CON QUITOSANO Y ADICIONADAS CON PARTÍCULAS DE ALMIDÓN* [en línea]. S.I.: Universida Autónoma del Estado de México. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/109321/TESIS.pdf?sequence=1>.

FERREIRA, S., 2007. *Pectinas: aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial* [en línea]. Primera. Bogotá: s.n. ISBN 9789587018622. Disponible en: http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Archivos_Libros/Libros_Farmacía/Pectinas/pectinas.pdf.

FONSECA, E., 2020. *Biopelículas a partir de harina Zea mays L. activado con aceite de Rosmarinus Officinalis y Eucalyptus Globulus mediante técnica casting* [en línea]. S.I.: Universidad Nacional de Chimborazo. Disponible en: http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6864/2/BIOPELICULAS_EVELLYN_FONSECA_03-09-2020.pdf.

FRANCO CASTILLO, M., RAMÍREZ HERNÁNDEZ, M., GARCÍA GÓMEZ, R., BERNAL GONZALEZ, M., ESPINOSA AQUINO, B., SOLÍS FUENTES, J. y DURÁN DE BAZÚA, C., 2010. Reaprovechamiento Integral de Residuos Agroindustriales: Cáscara y Pulpa de Cacao para la Producción de Pectinas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* [en línea], vol. 1, no. 2, pp. 45-66. Disponible en: http://cmas.siu.buap.mx/portal_pprd/work/sites/rlac/resources/LocalContent/24/1/REAPROVECHAMIENTO_INTEGRAL_Franco-Castillo.pdf.

GARCÍA, A.V., 2015. *Obtención de un polímero biodegradable a partir de almidón de maíz* [en línea]. Primera. El Salvador: ITCA Editores. ISBN 9789996150210. Disponible en: <https://www.itca.edu.sv/wp-content/themes/elaniin-itca/docs/2015-Obtencion-de-un-polimero-biodegradable.pdf>.

GONZÁLEZ CUELLO, R.E., MORÓN ALCÁZAR, L.B. y TARON DUNOYER, A.A., 2016. Caracterización físico mecánica de biopelículas comestibles binarias a base de K –

Carragenato y gelatina de alto acido. *Vitae* [en línea], vol. 23, pp. S185-S189. ISSN 21452660. Disponible en: <https://search.proquest.com/openview/11a540a534b20535776a71db766571ad/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1806352>.

HILVAY, L.R., 2015. *Efecto de los aceites esenciales de limón (Citrus limon), albahaca (Ocimum basilicum L.) y orégano (Origanum vulgare), en la conservación de la carne de cuy (Cavia porcellus)* [en línea]. S.l.: Universidad Técnica de Ambato. Disponible en: http://192.188.46.193/bitstream/123456789/11978/1/AL_570.pdf.

HUMPIRI, Y., 2018. *Reutilización de residuos de la cáscara de banano (Musa cavendish) y plátano (Musa paradisiaca) para la obtención de bioplásticos* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional del Altiplano de Puno. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/14887/Humpiri_Mamani_Yulay_Naisa.pdf?sequence=1.

INEN, 2012a. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2635:2012. Método de ensayo para las propiedades de tracción de láminas plásticas delgadas. [en línea]. Quito: Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2635.pdf>.

INEN, 2012b. NTE INEN 2636: Terminología Relativa a Plásticos Degradables. [en línea]. Quito: Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2636.pdf>.

JIMÉNEZ, M., 2016. *Desarrollo de material constructivo con materia proveniente de plásticos reciclados aplicado a la construcción en la ciudad de Loja* [en línea]. S.l.: Universidad Internacional del Ecuador. Disponible en: <https://repositorio.uide.edu.ec/bitstream/37000/1723/1/T-UIDE-0643.pdf>.

LAMA GUADAMUS, J.A., 2018. *Elaboración de bioplástico aprovechando la pectina presente en la cascara de naranja valencia (Citrus × sinensis) reforzado con almidón de yuca a nivel de laboratorio – UCV sede Lima Norte 2018* [en línea]. S.l.: Universidad César Vallerjo. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/24045>.

LLERENA, J.L. y MONZÓN, L.J., 2017. *Elaboración De Un Envase Biodegradable a Partir De Almidón Obtenido De Arroz Quebrado (Oryza Sativa), Queratina Obtenida De Residuos Avícolas (Plumas) Fortificado Con Residuos De Cáscaras De Mango (Mangifera Indica)* [en línea]. S.l.: Universidad Católica de Santa María. Disponible en:

<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/6666/42.0158.IB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

LUTHERAN WORLD RELIEF, 2013. *Aprendiendo e innovando sobre el cacao en sistemas agroforestales* [en línea]. 1a. Managua, Nicaragua: s.n. Disponible en: <https://cacaomovil.com/guia/1/contenido/origen-del-cacao/>.

MENDOZA VARGAS, L., JIMÉNEZ FORERO, J. y RAMÍREZ NIÑO, M., 2017. Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*). *Rev. U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica* [en línea], vol. 20, no. 1, pp. 131-138. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v20n1/v20n1a15.pdf>.

MONROY, D., 2019. *Elaboración de una biopelícula activa comestible con capacidad antimicrobiana que aumenta la vida de anaquel en pescado fresco a partir de colágeno* [en línea]. S.l.: Universidad Autónoma del Estado México. Disponible en: [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/104910/tesis++DIEGO+ERNESTO\(sin+datos+sensibles\).pdf?sequence=3](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/104910/tesis++DIEGO+ERNESTO(sin+datos+sensibles).pdf?sequence=3).

MUNDOPLAST, 2020. La producción de bioplásticos creció un 3% en 2019. [en línea]. Disponible en: <https://mundoplast.com/produccion-bioplasticos-nova/>.

NIZAMA, K.M., 2015. *Obtención y caracterización de pectina a partir de cáscara de cacao (*theobroma cacao L.*)* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional de Piura. Disponible en: <http://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/675/IND-NIZ-YAM-15.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

NUÑEZ, A.C., 2014. *Obtención de una película de bioplástico a partir del colágeno de las patas de pollo* [en línea]. S.l.: Universidad Central del Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2879/1/T-UCE-0017-90.pdf>.

ORTIZ VALBUENA, K.L. y ÁLVAREZ LEÓN, R., 2015. Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao L.*) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). *Boletín Científico del Centro de Museos*, vol. 19, no. 1, pp. 65-84. ISSN 01233068. DOI 10.17151/bccm.2015.19.1.5.

OSPINA, S., 2015. Biopolímeros y su aplicación en medio ambiente. *Revista Colombiana de*

Biotecnología, vol. 17, no. 2, pp. 5-6. ISSN 0123-3475. DOI 10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54295.

OWENS, H.S., MCCREADY, R.M., SHEPHERD, A.D., MIERS, J.C., EARLANDSED, R.F. y MACLAY, W.D., 1952. Methods used at western regional research laboratory for extraction and analysis of pectic materials. . Albany, California:

PARRA, J., 2019. *OBTENCIÓN DE BIOFILM A PARTIR DEL ALMIDÓN DE ZANAHORIA BLANCA (Arracacia xanthorrhiza) Y DE CAMOTE (Ipomoea batatas) COMO ALTERNATIVA AL USO DE MATERIAL PLÁSTICO DERIVADO DE PETRÓLEO* [en línea]. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/13808/1/96T00573.pdf>.

PASTUIZACA, M., 2020. *Obtención de una biopelícula a partir de la Oca (Oxalis tuberosa) y de la Yuca (Manihot esculenta) para la utilización como envoltura de alimentos*. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

PEREA, J.A., 2019. *El cacao desde la ciencia: de la semilla al chocolate* [en línea]. 1a Ed. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/esPOCH/129274>.

PILLIGUA, F.M., 2017. *EXTRACCIÓN DE LA PECTINA DEL NOPAL (Opuntia ficus indica) Y SU APLICACIÓN EN UN DULCE DE CACAO*. [en línea]. S.l.: Universidad de Guayaquil. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21901/1/BCIEQ-T-0218_Pilligua_Piguave_Flor_María.pdf.

RENGIFO, Y.J. y MACÍAS, J.C., 2019. *EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PECTINA DE LA CÁSCARA DE CACAO (Theobroma cacao)* [en línea]. S.l.: Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. Disponible en: <http://repositorio.esPAM.edu.ec/handle/42000/1056>.

RIERA, M., MALDONADO, S. y PALMA, R., 2018. Residuos agroindustriales generados en Ecuador para la elaboración de bioplásticos. *Ingeniería Industrial*, vol. 17, no. 3, pp. 227-246. DOI <https://doi.org/10.22320/S07179103/2018.13>.

RODRÍGUEZ, E.N., 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai* [en línea], vol. 7, no. 1, pp. 153-170. ISSN 1665-0441. Disponible

en: [http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-19articulosPDF/14-USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACION_Elvia Rguez.pdf](http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-19articulosPDF/14-USO_DE_AGENTES_ANTIMICROBIANOS_NATURALES_EN_LA_CONSERVACION_Elvia_Rguez.pdf).

SÁNCHEZ ALDANA, D., CONTRERAS ESQUIVEL, J.C., NEVÁREZ MOORILLÓN, G. V. y AGUILAR, C.N., 2015. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. *CYTA - Journal of Food* [en línea], vol. 13, no. 1, pp. 17-25. ISSN 19476345. DOI 10.1080/19476337.2014.904929. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>.

SÁNCHEZ, J. y VALDEZ, L., 2019. *Biopelícula activa a base de almidón de mandioca (Manihot Esculenta) aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis) reforzado con organoarcillas* [en línea]. S.l.: Universidad Peruana Unión. Disponible en: http://repositorio.upeu.edu.pe:8080/bitstream/handle/UPEU/1768/Jackeline_Tesis_Licenciatura_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

SCALVENZI, L., YAGUACHE CAMACHO, B., GUERRINI, A., RADICE, M. y CHIURATO, M., 2016. Efectos de los aceites esenciales amazónicos de Citrus limon y Cymbopogon citratus sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología* [en línea], vol. 5, no. 3, pp. 206-217. ISSN 1390-5600. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Matteo_Radice/publication/315652600_Efectos_de_los_aceites_esenciales_amazonicos_de_Citrus_limon_y_Cymbopogon_citratus_sobre_el_crecimiento_de_hongos_fitopatogenos/links/58d7e6eaa6fdcc1baeb8105d/Efectos-de-los-aceites-.

SOLANO-DOBLADO, L.G., ALAMILLA-BELTRÁN, L. y JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C., 2018. Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 21, pp. 30. ISSN 1405-888X. DOI 10.22201/fesz.23958723e.2018.0.153.

SUAREZ, D.L. y 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* [en línea]. S.l.: Universidad Tecnológica de Pereira. Disponible en: [https://www.academia.edu/28418197/OBTENCIÓN_Y_CARACTERIZACIÓN_DE_PECTINA_A_A_PARTIR_DE_LA_CASCARILLA_DE_CACAO_DEL_Theobroma_cacao_L_SUBPRODUCTO_DE_UNA_INDUSTRIA_CHOCOLATERA_NACIONAL](https://www.academia.edu/28418197/OBTENCIÓN_Y_CARACTERIZACIÓN_DE_PECTINA_A_PARTIR_DE_LA_CASCARILLA_DE_CACAO_DEL_Theobroma_cacao_L_SUBPRODUCTO_DE_UNA_INDUSTRIA_CHOCOLATERA_NACIONAL).

UNEP, 2018. América Latina y el Caribe, a la vanguardia en la lucha contra los plásticos. *ONU*

(*Programa para el medio ambiente*) [en línea]. [Consulta: 7 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.unenvironment.org/es/noticias-y-reportajes/editorial/america-latina-y-el-caribe-la-vanguardia-en-la-lucha-contra-los>.

VARGAS, M.D., FERNÁNDEZ, L.A., FERNÁNDEZ, F.J., GARCIA, J.L., MELGAR, R. y SUÁREZ, F., 2014. *De residuo a recurso. El camino hacia la sostenibilidad*. Madrid, España: Mundi-Prensa, Ediciones.

VASSALLO, M., 2015. *Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana del cacao* [en línea]. 1a Ed. Quito: s.n. ISBN 9788578110796. Disponible en: <https://editorial.iaen.edu.ec/wp-content/uploads/2016/06/Cadena-del-cacao-en-Ecuador.pdf>.

ZAMUDIO, G.A., 2014. *Aplicaciones de las biopelículas comestibles en la industria alimenticia* [en línea]. S.l.: Universidad del Valle - Cali. Disponible en: <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/handle/10893/17676/0519674.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

ZEGADA FRANCO, V., 2015. Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas (HMO). *Centro de Investigaciones de Procesos Industriales (CIPI)* [en línea], vol. 1, no. 15, pp. 65-76. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/riyd/v1n15/v1n15_a07.pdf.

ANEXOS

ANEXO A: Proceso de obtención del polvo de la cáscara de cacao



a)



b)



c)



d)



e)



f)

- a. Lavado de la materia prima
- b. Cortado
- c. Despulpado
- d. Troceado
- e. Blanqueado
- f. Ecurrido



g)



h)



i)



j)

- g. Secado
- h. Almacenado de las cáscaras secas
- i. Molienda
- j. Almacenado del polvo de las cáscaras de cacao

ANEXO B: Proceso de obtención de pectina de la cáscara de cacao



a)



b)



c)



d)



e)

- a. Acidulación de soluciones
- b. Hidrólisis
- c. Precipitación alcohólica
- d. Filtración
- e. Secado



f)



g)



h)

- f. Molienda
- g. Tamizado
- h. Almacenado

ANEXO C: Caracterización de la pectina



a)



b)



c)



d)



e)



f)

- a. Determinación de humedad
- b. Incineración para el ensayo de cenizas
- c. Enfriamiento de muestras
- d. Titulación con NaOH (0,1 N)
- e. Punto de cambio de la titulación
- f. Solubilidad y pH

ANEXO D: Obtención de las biopelículas



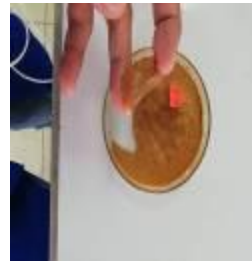
a)



b)



c)



d)



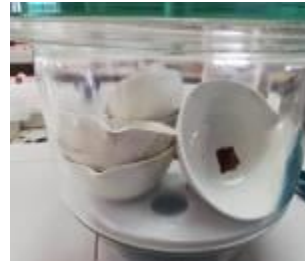
e)

- a. Elaboración de biopelículas
- b. Método de casting
- c. Formulaciones rechazadas
- d. Formulaciones aceptadas
- e. Lámina de bioplástico

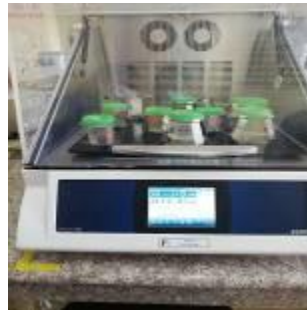
ANEXO E: Caracterización de las biopelículas



a)



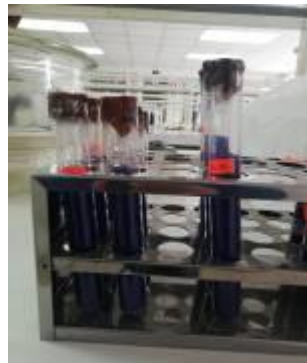
b)



c)



d)



e)

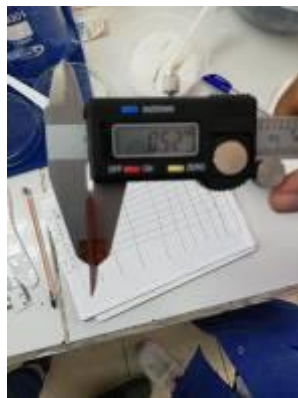


f)

- a. Determinación de humedad
- b. Enfriamiento de muestras
- c. Ensayo de solubilidad
- d. Resultado de la solubilidad
- e. Ensayo de permeabilidad al vapor de agua
- f. Probetas



g)



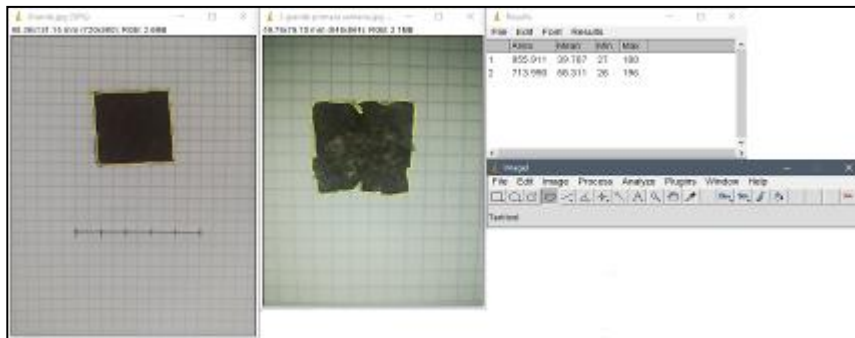
h)



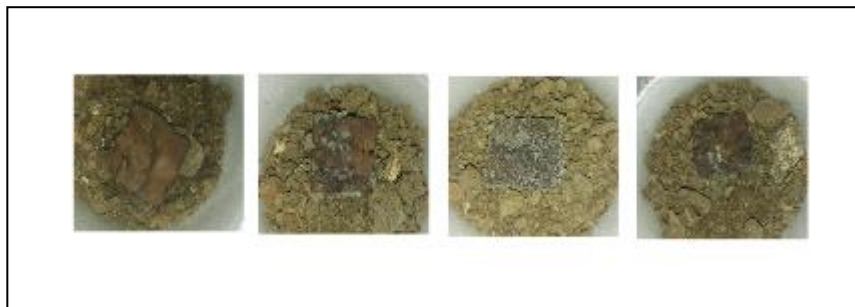
i)

- g. Pruebas mecánicas de tracción
- h. Espesor
- i. Muestras para pruebas microbiológicas

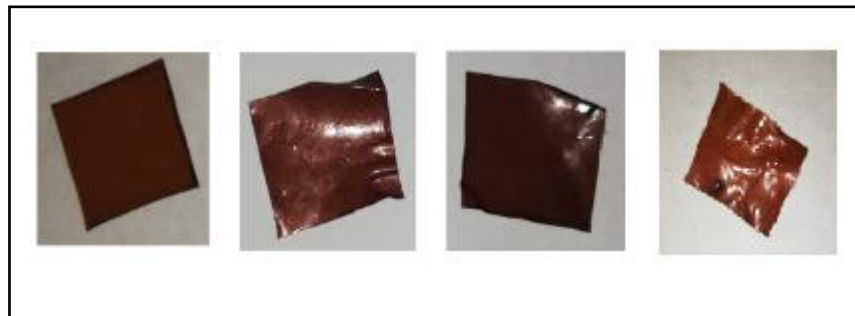
ANEXO F: Pruebas de biodegradabilidad de las biopelículas



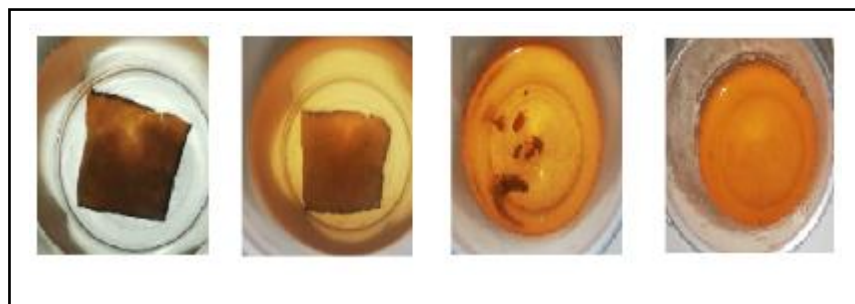
a.



b.



c.



d.

- Determinación de áreas en el programa Imagen J
- Biodegradabilidad en suelos
- Biodegradabilidad al ambiente
- Biodegradabilidad en agua

ANEXO G: Ensayos de tracción de las biopelículas



DATOS CLIENTE

CÓDIGO: 984563
NOMBRE: LUIS CARLOS CORDOVA COX
CÉDULA: 150078433-3
DIRECCIÓN: Francisco de Marcos y José Villamil (Cantón Riobamba)
TELÉFONO: 0982363995
CORREO ELECTRÓNICO: luis.cordova@esPOCH.edu.ec
RESPONSABLE DE ENTREGA: Ing. Julio Llerena

DATOS GENERALES

REGISTRO: 0051
FECHA DE RECEPCIÓN: 10 de febrero del 2021
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME: 11 de febrero del 2021
DE MUESTRAS: 4
IDENTIFICACIÓN:

- TP4 – R1: Biopelícula CP2: CG2 (3% pectina, 1,5% glicerina)
- TP4 – R2: Biopelícula CP2: CG2 (3% pectina, 1,5% glicerina)
- TP4 – R3: Biopelícula CP2: CG2 (3% pectina, 1,5% glicerina)

CONDICIONES AMBIENTALES: Específicas del laboratorio

TÉRMINOS Y CONDICIONES

1. El presente servicio se ajusta a lo establecido en las "Políticas y Condiciones del Servicio de Pruebas del Laboratorio" de las cuales el solicitante declara estar enterado y de acuerdo al plasmar su firma en el recibo del informe.
2. Este informe solo será válido y autentico en papel membretado de la institución y deberá presentar las firmas del Asesor Técnico y el sello del laboratorio en todas las hojas. En caso de la originalidad de este informe, podrá solicitar información al Laboratorio para su validación.
3. La identificación de las muestras son responsabilidad del solicitante del servicio ya que tales datos se toman al momento de elaborar la orden de trabajo.
4. Los resultados de estas pruebas solo corresponden a las muestras recibidas en el laboratorio de las cuales se guarda una muestra para cualquier aclaración

Panamericana Sur Km Teléfono: 593(03)2998350 EXT: 350 Dec., 152
Mail: Laboratorio.Irtce@gmail.co



dentro de los 2 meses a la fecha de la primera emisión del informe, siempre y cuando exista sobrante y la muestra no haya caducado.

5. Las fechas de inicio y terminación de los ensayos están contempladas en el periodo de tiempo entre la fecha de inicio del servicio y la fecha de emisión del informe.
6. Toda acción relativa a las pruebas y emisión de un informe se realizara solo en un plazo no mayor a 60 días naturales posteriores a la primera emisión del informe.

SE PROHÍBE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME SIN LA AUTORIZACIÓN POR ESCRITO DEL LABORATORIO CORRESPONDIENTE.



LDPF

LABORATORIO DE PRUEBAS FÍSICAS



BIOPÉLÍCULA CP2 : CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

TP4 - R1



HOJA TÉCNICA: BIOPÉLÍCULA CP2:CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

PRUEBA	UNIDAD	METODO DE ENSAYO	RESULTADO OBTENIDO	NIVEL SUGERIDO
Tensión (N/m ²)	TP4 - R1	IUP 6	820,00	800 -1500
Elongación (%)	TP4 - R1	IUP 6	40,00	40 - 80

Panamericana Sur Km Teléfono: 593(03)2998350 EXT: 350 Dec., 152
Mail: Laboratorio.lrtce@gmail.co



BIOPELÍCULA CP2 : CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

TP4 - R2



HOJA TÉCNICA: BIOPELÍCULA CP2:CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

PRUEBA	UNIDAD	METODO DE ENSAYO	RESULTADO OBTENIDO	NIVEL SUGERIDO
Tensión (N/m ²)	TP4 - R2	IUP 6	813,33	800 -1500
Elongación (%)	TP4 - R2	IUP 6	42,50	40 - 80

Panamericana Sur Km Teléfono: 593(03)2998350 EXT: 350 Dec., 152
Mail: Laboratorio_fitos@gmail.com

BIOPELÍCULA CP2 : CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

TP4 - R3



HOJA TÉCNICA: BIOPELÍCULA CP2:CG2 (3% PECTINA, 1,5% GLICERINA)

PRUEBA	UNIDAD	METODO DE ENSAYO	RESULTADO OBTENIDO	NIVEL SUGERIDO
Tensión (N/m ²)	TP4 - R3	IUP 6	811,76	800 -1500
Elongación (%)	TP4 - R3	IUP 6	42,5	40 - 80

Panamericana Sur Km Teléfono: 593(03)2998350 EXT: 350 Dec., 152
Mail: Laboratorio.lrtce@gmail.co

TÉRMINOS Y CONDICIONES

7. El presente servicio se ajusta a lo establecido en las "Políticas y Condiciones del Servicio de Pruebas del Laboratorio" de las cuales el solicitante declara estar enterado y de acuerdo al plasmar su firma en el recibo del informe.
8. Este informe solo será válido y autentico en papel membretado de la institución y deberá presentar las firmas del Asesor Técnico y el sello del laboratorio en todas las hojas. En caso de la originalidad de este informe, podrá solicitar información al Laboratorio para su validación.
9. La identificación de las muestras son responsabilidad del solicitante del servicio ya que tales datos se toman al momento de elaborar la orden de trabajo.
10. Los resultados de estas pruebas solo corresponden a las muestras recibidas en el laboratorio de las cuales se guarda una muestra para cualquier aclaración dentro de los 2 meses a la fecha de la primera emisión del informe, siempre y cuando exista sobrante y la muestra no haya caducado.
11. Las fechas de inicio y terminación de los ensayos están contempladas en el periodo de tiempo entre la fecha de inicio del servicio y la fecha de emisión del informe.
12. Toda acción relativa a las pruebas y emisión de un informe se realizara solo en un plazo no mayor a 60 días naturales posteriores a la primera emisión del informe.

SE PROHÍBE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME SIN LA AUTORIZACIÓN POR ESCRITO DEL LABORATORIO CORRESPONDIENTE.

OBSERVACIONES:

- Muestreo realizado de acuerdo con la norma IUP 6.
- El equipo utilizado para este ensayo de Resistencia a la Tensión del Cuero es un dinamómetro.
- Los resultados de las pruebas en el Laboratorio de Curtiembre son obtenidos de las muestras proporcionadas por nuestro cliente.

FECHA DE ENTREGA: 11 de Febrero del 2021.

ENTREGO CONFORME



ING. JULIO CESAR LLERENA ZAMBRANO

RECIBI CONFORME
LUIS CORDOVA COX



ANEXO H: Resultados de las pruebas de tracción

INFORME DE RESULTADOS	
ENSAYO DE TRACCIÓN	N° 1
REALIZADO POR	LUIS CARLOS CÓRDOVA COX
TEMA DE TESIS	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (<i>Citrus limon</i>) PARA EL USO EN ALIMENTOS
TIPO DE MATERIAL	BIOPELÍCULA – CÁSCARA DE CACAO
MATERIAL	BIOPELÍCULA CP2:CG2
TRATAMIENTO	TP4
REPETICIÓN	R1
FECHA DE FABRICACIÓN	2021 - 01
CARACTERÍSTICA DE COLOR	LÁMINA COLOR MARRÓN
ESPESOR (mm)	0,10
ANCHURA (mm)	12,00
LONGITUD INICIAL (mm)	25,00
SECCIÓN TRANSVERSAL (mm ²)	1,20
CARGA MÁXIMA (N)	4,10
ESFUERZO MÁXIMO (MPa)	3,42
PORCENTAJE DE ELONGACIÓN	40,00

Aprobado por



ING. JULIO LLERENA

TÉCNICO RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE CURTIEMBRE Y FIBRAS AGROINDUSTRIALES

INFORME DE RESULTADOS	
ENSAYO DE TRACCIÓN	N° 2
REALIZADO POR	LUIS CARLOS CORDOVA COX
TEMA DE TESIS	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (<i>Citrus limon</i>) PARA EL USO EN ALIMENTOS
TIPO DE MATERIAL	BIOPELÍCULA – CÁSCARA DE CACAO
MATERIAL	BIOPELÍCULA CP2:CG2
TRATAMIENTO	TP2
REPETICIÓN	R2
FECHA DE FABRICACIÓN	2021 - 01
CARACTERÍSTICA DE COLOR	LÁMINA COLOR MARRÓN
ESPESOR (mm)	0,15
ANCHURA (mm)	12,00
LONGITUD INICIAL (mm)	25,00
SECCIÓN TRANSVERSAL (mm ²)	1,80
CARGA MÁXIMA (N)	6,10
ESFUERZO MÁXIMO (MPa)	3,38
PORCENTAJE DE ELONGACIÓN	42,50

Aprobado por




ING. JULIO LLERENA

TÉCNICO RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE CURTIEMBRE Y FIBRAS AGROINDUSTRIALES

INFORME DE RESULTADOS	
ENSAYO DE TRACCIÓN	N° 3
REALIZADO POR	LUIS CARLOS CÓRDOVA COX
TEMA DE TESIS	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA A PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (<i>Theobroma cacao L.</i>) Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (<i>Citrus limon</i>) PARA EL USO EN ALIMENTOS
TIPO DE MATERIAL	BIOPELÍCULA – CÁSCARA DE CACAO
MATERIAL	BIOPELÍCULA CP2:CG2
TRATAMIENTO	TP4
REPETICIÓN	R3
FECHA DE FABRICACIÓN	2021 - 01
CARACTERÍSTICA DE COLOR	LÁMINA COLOR MARRÓN
ESPESOR (mm)	0,17
ANCHURA (mm)	12,00
LONGITUD INICIAL (mm)	25,00
SECCIÓN TRANSVERSAL (mm ²)	2,04
CARGA MÁXIMA (N)	6,90
ESFUERZO MÁXIMO (MPa)	3,38
PORCENTAJE DE ELONGACIÓN	42,50

Aprobado por




ING. JULIO LLERENA

TÉCNICO RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE CURTIEMBRE Y FIBRAS AGROINDUSTRIALES

ANEXO I: Resultados de las pruebas microbiológicas



Contáctanos: 0998580374 - 032924322
Av. 11 de noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

RESULTADO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE UNA BIOPELÍCULA ELABORADA CON PECTINA A PARTIR DE RESIDUOS DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) Y ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (*Citrus limon*).

NOMBRE: Luis Carlos Córdova Cox
TRATAMIENTOS: TP4 – R1 (3% pectina, 1,5% glicerina) TP4 – R2 (3% pectina, 1,5% glicerina) TP4 – R3 (3% pectina, 1,5% glicerina)
TIPO DE MUESTRA: Biopelícula de pectina a partir de residuos de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) y aceite esencial de limón (<i>Citrus limon</i>)
FECHA DE ENTREGA DE MUESTRA: 2021-02-11
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS: 2021-02-17

Examen Físico

COLOR: Marrón
OLOR: Inoloro.
ASPECTO: Biopelícula

Examen Microbiológico

Análisis de biopelícula de pectina a partir de residuos de cacao y aceite esencial de limón					
Determinaciones	Unidades	*Valores de referencia	Resultados		
			TP4 - R1	TP4 - R2	TP4 - R3
Coliformes Totales	UFC/g	-	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Fecales (<i>Escherichia coli</i>)	UFC/g	-	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Mohos y levaduras	UFC/g	-	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Gina
Álvarez
Reyes

Firmado digitalmente
por Gina Álvarez
Reyes
Motivo: Aprobado este
documento
Fecha: 2021-02-18
08:49:05:00

Dra. Gina Álvarez R.
RESPONSABLE TECNICO LABORATORIO.
Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL
APRENDIZAJE**



**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

Fecha de entrega: 11 / 11 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR(ES)
Nombres – Apellidos: Luis Carlos Córdova Cox
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Química
Título a optar: Ingeniero Químico
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo
 Firmado electrónicamente por: RAFAEL INTY SALTO
1363-DBRAI-UTP-2021