



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
CAMPO 1

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA DE PECTINAS
DE LA PULPA DE TEJOCOTE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

(FISICOQUÍMICA)

P R E S E N T A:

ANA MARÍA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. MÉX.

2001



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CARTA DE VOTOS APROBATORIOS

Coordinación General de Estudios de Posgrado
FES-Cuautitlán
Presente.

Por medio de la presente nos permitimos comunicar a usted que revisamos la tesis titulada "EXTRACCION Y CARACTERIZACION FISICOQUIMICA DE PECTINAS DE LA PULPA DE TEJOCOTE"

que presenta el (la) alumno (a) VELAZQUEZ SANCHEZ ANA MARIA

con número de cuenta 7379346-9 y número de expediente 100931030

para obtener el grado de MAESTRIA
EN FISICOQUIMICA (METODOS Y METROLOGIA)

Consideramos que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el Examen de Grado correspondiente, otorgamos el voto aprobatorio.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

CUAUTITLAN IZCALLI a 5 de ENERO del 2001

NOMBRE DE LOS SINODALES

Presidente M.C. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO

Vocal M.C. ESTHER AGACINO VALDES

Secretario M.C. GUILLERMO RODRIGUEZ ROMERO

Primer Suplente M.C. ALBERTO RAMIREZ MURCIA

Segundo Suplente M.C. VICTOR MANUEL GONZALEZ ROBLES

HONORABLE JURADO

| | |
|------------------|-----------------------------------|
| Presidente | DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO |
| Vocal | DRA. ESTHER AGACINO VALDES |
| Secretario | MC. GUILLERMO RODRÍGUEZ ROMERO |
| Primer suplente | MC. ALBERTO RAMIREZ MURCIA |
| Segundo suplente | DR. VICTOR MANUEL GONZALEZ ROBLES |

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Investigación de la sección de Fisicoquímica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM. En el laboratorio de Productos Naturales de la ENEP Iztacala y en el laboratorio de Química Analítica del Tecnológico de Estudios Superiores Ecatepec, bajo la dirección del Dr. Enrique Angeles Anguiano.

DEDICATORIAS

A DIOS EN SU PERFECTA Y AMOROSA TRINIDAD PADRE, HIJO Y ESPÍRITU SANTO. POR QUIÉN SOY Y ASPIRO LLEGAR A SU PRESENCIA.

A LA SIEMPRE VIRGEN MARÍA SANTÍSIMA MADRE DE JESÚS Y DE TODA LA HUMANIDAD, QUE AÚN SIN CREER EN JESUCRISTO, VENCE AL MAL CON EL BIEN. POR SU MARAVILLOSO EJEMPLO QUE ME INSPIRA Y GUÍA SIEMPRE A SER MEJOR

A MIS PADRES

MERCEDES SANCHEZ NOYOLA POR DARME SU VIDA, POR SU GRAN APOYO, POR ENSEÑARME SU VALOR, SU FUERZA, SU ENTEREZA. Y POR SU AMOR INCONDICIONAL.

SALVADOR VELAZQUEZ VASCONCELOS POR DARME SU VIDA Y POR ENSEÑARME A AYUDAR SIEMPRE A LOS DEMÁS ENTREGANDO LO MEJOR DE UNO MISMO.

A MI ESPOSO ALFONSO RAMOS ANASTASIO POR COMPARTIR CONMIGO SU VIDA Y SU AMOR. POR SU PACIENCIA Y SU APOYO TANTO MATERIAL COMO ESPIRITUAL QUE ME ALIENTAN A SEGUIR ADELANTE Y SER MEJOR CADA DÍA.

A MIS HIJOS MOISÉS ABRAHAM, EMMANUEL ISAAC, ANA GUADALUPE Y GEMA MARÍA ISABEL, PORQUE SON EL TESORO MÁS GRANDE QUE DIOS ME HA DADO. PORQUE SON LA RAZÓN DE MI VIDA Y DE MI SER. PORQUE ADEMÁS DE SER MIS HIJOS SON MIS AMIGOS, MIS COMPAÑEROS Y MIS PROFESORES.

A MIS HERMANOS Y SUS FAMILIAS: SALVADOR, ALVARO, FERNANDO Y GILDARDO PORQUE NOS QUEREMOS Y NOS RESPETAMOS SIEMPRE. SOBRE TODO A TI ALVARO POR TANTA COMPRENSIÓN Y AMOR

A MIS CUÑADAS ALMA ROSA Y CHAYO Y SUS HIJOS POR SU MANERA DE COMPARTIR EN FAMILIA

A MIS SUEGROS‡

A MIS CUÑADAS HERMANAS DE ALFONSO Y SUS FAMILIAS. HEMOS ENCONTRADO LA UNIDAD.

A TODOS MIS SOBRINOS, PORQUE SIEMPRE NOS LA PASAMOS SUPER BIEN.

AGRADECIMIENTOS

AGRADEZCO A DIOS INFINITAMENTE LA VIDA, SU AMOR QUE HE ENCONTRADO A TRAVÉS DE TANTOS SERES HUMANOS MARAVILLOSOS, LA CONCLUSIÓN DE ESTE TRABAJO Y DE MUCHOS MÁS QUE ÉL HA DE QUERER QUE SIGA REALIZANDO.

ALFONSO, MOISÉS, EMMANUEL, ANITA, GEMITA, GRACIAS POR TODO Y SOBRE TODO POR SU AMOR Y PACIENCIA, LA CONCLUSIÓN DE ESTE TRABAJO TAMBIÉN ES SU TRIUNFO.

A MIS PADRES Y A TODA MI FAMILIA MUCHAS GRACIAS, POR SU APOYO, SU AMOR Y COMPRENSIÓN PORQUE EL TIEMPO QUE DEDIQUE A ESTE TRABAJO FUE TIEMPO QUE NO PUDE ESTAR CON USTEDES, PERO SABEMOS QUE NOS AMAMOS.

AL DOCTOR ENRIQUE ANGELES ANGUIANO, POR SU AMISTAD, POR SU APOYO INCONDICIONAL, POR SU EXCELENCIA ACADÉMICA Y POR SU EJEMPLO COMO UN GRAN SER HUMANO.

AL MC. GUILLERMO RODRÍGUEZ ROMERO, A LA DRA. ESTHER AGACINO VALDES, AL DR. VICTOR MANUEL GONZALEZ ROBLES, AL MC. ALBERTO RAMÍREZ MURCIA POR SU AMISTAD, SU GRAN APOYO EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO, POR SU PROFESIONALISMO Y SUS ACERTADOS COMETARIOS QUE ENRIQUECIERON ESTE TRABAJO DURANTE LA REVISIÓN Y POR EL TIEMPO DEDICADO A LA MISMA.

A MARGARITA ORDOÑEZ ANDRADE GRACIAS POR TU GRAN AYUDA EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO, POR TU AMISTAD Y TU CARIÑO.

A PORFIRIO GARCÍA E., VICTORIA HERNÁNDEZ P., JUANITA CUEVAS Y VALE, ANTONIO GARCÍA O., VERENICE TAPIA S., GRACIELA MARTÍNEZ C., GUILLERMO RODRÍGUEZ R., LETY Y BERTHA GRACIAS POR SU AMISTAD, POR SU CARIÑO, POR SU APOYO Y POR LAS REUNIONES DE CANASTO TAN RECONFORTANTES.

A JUANITA CABRERA, ALE, ROSARIO Y CÉSAR GRACIAS POR SU AMISTAD SU APOYO Y SUS PALABRAS DE MOTIVACIÓN Y ALIENTO.

AL PERSONAL DE LAS BIBLIOTECAS DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DEL CINVESTAV Y DE FES CUAUTITLÁN POR SU ALTA CALIDAD DE SERVICIO.

A TODOS LOS QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO. ESPECIALMENTE A LOS TÉCNICOS DE VARIAN POR SUS ASESORIAS EN ICP

MUCHAS GRACIAS A TODOS.

ÍNDICE

| | | |
|----------|--|-----|
| | Índice | i |
| | Resumen | iii |
| | Abstract | iv |
| | Objetivos | v |
| | Introducción | 1 |
| Capítulo | 1. Tejocote | 5 |
| | 1.1. Significado Etimológico y Clasificación Taxonómica | 5 |
| | 1.2. Descripción y Utilidad del Tejocote | 5 |
| | 1.3. Producción y Comercialización del Tejocote | 6 |
| | 1.4. Características Físicas, Químicas y Bromatológicas del Tejocote | 11 |
| | 1.5. Acondicionamiento y Conservación de la Pulpa | 14 |
| | 1.5.1. Escaldado | 14 |
| | 1.5.2. Conservación de la Pulpa de Tejocote | 14 |
| Capítulo | 2. Pectinas | 15 |
| | 2.1. Estructura General de las Pectinas | 15 |
| | 2.2. Clasificación de las Pectinas | 17 |
| | 2.3. Propiedades Fisicoquímicas de la Pectina | 17 |
| | 2.3.1. Pectina como Agente Gelificante y Emulsificante | 19 |
| | 2.4. Reacciones Químicas de las Pectinas | 20 |
| | 2.5. Extracción y Purificación de Pectina | 21 |
| | 2.6. Aplicaciones Industriales de la Pectina | 29 |
| Capítulo | 3. Fundamento de los Métodos de Caracterización de la Pectina | 31 |
| | 3.1. Cromatografía. Generalidades | 32 |
| | 3.2. Cromatografía en Capa Fina y Papel | 36 |
| | 3.3. Cromatografía de Gases | 37 |
| | 3.4. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución | 39 |
| | 3.5. Espectrofotometría | 40 |
| | 3.5.1. Espectroscopía Ultravioleta – Visible | 42 |
| | 3.5.2. Espectroscopía Infrarroja | 44 |
| | 3.5.2.1. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier | 45 |
| | 3.5.3. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear | 47 |
| | 3.6. Espectroscopía atómica. Emisión ICP | 51 |
| | 3.7. Reología | 55 |
| Capítulo | 4. Desarrollo Experimental | 61 |
| | 4.1. Escaldado, Despulpado y Conservación de la Pulpa de Tejocote | 61 |
| | 4.2. Secado de la Pulpa de Tejocote y de la Pectina | 61 |
| | 4.3. Análisis Bromatológico | 62 |
| | 4.4. Extracción de Pectina | 62 |
| | 4.4.1. Método aplicado a la Pulpa de Kiwi | 62 |
| | 4.4.2. Método aplicado a la Pulpa de Kiwi Modificado | 64 |

| | |
|--|-----|
| 4.4.3. Método que emplea Ácido Oxálico como agente Extractante | 65 |
| 4.4.4. Método que emplea EDTA como agente Extractante | 66 |
| 4.4.5. Método Acuoso | 67 |
| 4.4.6. Método Secuencial de Extracción de Pectina | 68 |
| 4.4.7. Obtención del gel de Pectina | 68 |
| 4.5. Purificación de la Pectina | 69 |
| 4.6. Caracterización de la Pectina | 69 |
| 4.6.1. Punto de Fusión | 69 |
| 4.6.2. Solubilidad | 70 |
| 4.6.3. Caracterización Química Cualitativa | 70 |
| 4.6.4. Caracterización por Cromatografía de Gases | 70 |
| 4.6.5. Caracterización por Cromatografía de HPLC | 71 |
| 4.6.6. Caracterización Volumétrica | 71 |
| 4.6.7. Caracterización Espectroscópica | 73 |
| 4.6.8. Caracterización por Espectroscopía Atómica. Emisión ICP | 73 |
| 4.6.9. Caracterización Reológica de las Soluciones de Pectina | 74 |
| 4.6.10. Análisis Elemental | 74 |
| 4.7. Análisis Económico de la Extracción de Pectina | 74 |
| Capítulo 5. Resultados. Análisis y Discusión | 75 |
| Capítulo 6. Conclusiones Generales | 100 |
| Referencias | 102 |
| Anexo 1 Cálculo Teórico y Dato Experimental de la Temperatura del Horno de Microondas empleado para Secar la Pulpa de Tejocote | 105 |
| Anexo 2 Índices de Refracción para verificar la Pureza del Etanol Recuperado Difractograma Inicial. Curvas de Valoración Potenciométricas | 107 |
| Anexo 3 Cromatografía de Gases | 110 |
| Anexo 4 Cromatografía de Líquidos | 111 |
| Anexo 5 Espectroscopía Ultravioleta – Visible | 112 |
| Anexo 6 Espectroscopía Infrarroja | 113 |
| Anexo 7 Resonancia Magnética Nuclear | 114 |
| Anexo 8 Espectroscopía de Emisión ICP | 115 |
| Anexo 9 Reología | 116 |

RESUMEN

Las pectinas son macromoléculas cuya función fisiológica específica es ser cemento celular en frutas y vegetales. Estas sustancias son importantes porque tiene las propiedades de formar emulsiones y geles en presencia de glucosa, otros azúcares de frutas y de iones metálicos tanto monovalentes como bivalentes. Debido a estas propiedades las pectinas se emplean en diversas industrias como la farmacéutica, la alimentaria, la química, la del acero, la textil y en medicina.

Actualmente las pectinas empleadas en México se importan. Estas sustancias pueden extraerse de las pulpas molidas, secas o húmedas, de diversas frutas y vegetales. Después se purifican para obtener las propiedades gelificantes esperadas. La extracción de las sustancias pécticas es económica.

Por otra parte, los conceptos de fisicoquímica aplicados a macromoléculas plantean y resuelven problemas y cuestiones especiales como la determinación de su peso molecular, forma, longitud de las cadenas poliméricas y los comportamientos, tanto químico, reológico como espectroscópico.

En esta investigación se encontraron métodos para el escaldado del fruto, la conservación y el secado de la pulpa de tejocote. También se obtuvieron métodos para la extracción, la purificación y el secado de pectina. Además se emplearon métodos para la caracterización fisicoquímica tanto cualitativa como cuantitativa de ésta. Se realizaron el análisis elemental y el análisis bromatológico, se determinaron el punto de fusión, la solubilidad, el pH de las soluciones de pectina, el número de fracciones poliméricas y su respectivo peso molecular de la muestra empleando la cromatografía de líquidos de alta resolución y el contenido de iones metálicos empleando la espectrometría de emisión con ICP. También se estudiaron los comportamientos reológico y espectroscópico de las pectinas.

Finalmente se llevó a cabo el análisis económico de los métodos de extracción de pectina, desarrollados en este trabajo.

ABSTRACT

The pectic substances are natural macromolecules, and its physiological specific function is being the cellular concrete in vegetables and fruits. This fruit substances are important because they have the properties to form emulsions and gels in presence of glucose or other sugar fruits and metallic ions, for these reasons they are used in pharmaceutical, food, chemical, steel industries and medicine.

Nowadays the pectin that employed in Mexico is imported, this is extracted from mill and dry pulp of some fruits to obtain the wished gelific properties.

Although, lots of physicochemical concepts apply to macromolecules, these plan special questions and problems including the determination of their molecular weight, shape, form, the length of polymeric chain, reological and spectroscopic behavior.

In this investigation we found one method for scald, conserve and dry the pulp of hawthorn, one method for the extraction, purification and dry pectin. Furthermore we found the qualitative and quantitative physicochemical characterization of pectin. I got the elemental analysis, bromatologycal analysis, melting point, solubility, pH of pectin solutions, the determination of the number of fractions and their respective molecular weight employing the HPLC method, the reological and spectroscopic behavior and the contain of metallic ions employing the ICP method. Finally we found the economical analysis of the pectin extraction.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL.

Caracterización fisicoquímica de la pectina extraída previamente de la pulpa de tejocote (*Crataegus mexicana*) de la variedad "H".

2. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Encontrar y optimizar un método de extracción de pectina de la pulpa de tejocote de la variedad "H".
2. Determinar la pureza de la pectina empleando métodos químicos e instrumentales.
3. Medir algunas propiedades fisicoquímicas de la pectina de tejocote (color, viscosidad intrínseca, punto de fusión, solubilidad, pH, número de fracciones, peso molecular, etc.).
4. Determinar algunas propiedades espectroscópicas de la pectina extraída.
5. Determinar algunas propiedades reológicas de soluciones de pectina de tejocote de la variedad "H".
6. Realizar el análisis económico de algunos procesos de extracción de la pectina.

En el capítulo cuatro se presenta el desarrollo experimental que consistió en el escaldado y despulpado del fruto, conservación de la pulpa, secado de la pulpa, análisis bromatológico de la pulpa, extracción de la pectina por el método aplicado a la pulpa de kiwi, método modificado aplicado a la pulpa de kiwi, método con ácido oxálico, método con EDTA, método acuoso y método secuencial, purificación de la pectina, secado de la pectina y caracterización de la misma. Esta caracterización consistió en determinar diferentes propiedades fisicoquímicas de la macromolécula teniendo como pectina de control a la pectina cítrica. Las propiedades físicas que se determinaron son: pureza, solubilidad en diferentes disolventes, punto de fusión, composición por medio de un HPLC, es decir se determinaron el número de fracciones que constituyen la muestra de pectina extraída y su peso molecular promedio empleando la técnica de cromatografía de líquidos de alta precisión y patrones de proteínas, sus propiedades reológicas empleando los reómetros. Las propiedades químicas determinadas son los análisis elemental, análisis bromatológico y su contenido de elementos inorgánicos empleando espectrometría de emisión con plasma de Argón, reacciones químicas y grupos funcionales probables con ayuda de la espectroscopia ultravioleta - visible, infrarroja y resonancia magnética nuclear. Además del análisis económico de la extracción.

En los capítulos cinco y seis se muestran los resultados su análisis y las conclusiones del trabajo.

Finalmente a manera de anexos se presentan el cálculo teórico y dato experimental promedio de la temperatura que alcanza el horno de microondas al secar la pulpa de tejocote, la tabla de índices de refracción para verificar la pureza del alcohol recuperado y un difractograma inicial que nos indicó la presencia de pectina en la pulpa, las curvas potenciométricas empleadas para la determinación de los porcentajes de ácido anhidrouónico y de metoxilos y el peso equivalente de las pectinas extraídas, los cromatogramas tanto de gases como de líquidos, los espectros uv - visible, infrarrojo y RMNH¹, los datos de la espectrometría de emisión por ICP, y los datos del estudio reológico de las soluciones de pectina, tanto cítrica como de tejocote.

Queda mucho por hacer respecto a esta investigación, sobre todo en el estudio de la pectina de tejocote por Resonancia Magnética Nuclear y Difracción de Rayos X;

además de las aplicaciones farmacéuticas en las que se puede emplear el polímero como recubrimiento de diversos principios activos.

Sin embargo, el trabajo desarrollado presenta una contribución a la Metodología del Estudio de Macromoléculas Naturales respecto a las sustancias pécticas, sobre todo en el estudio Reológico de las soluciones y la evaluación de algunos Métodos reportados de extracción y caracterización que se reportan en la literatura.

También deja abierto un amplio panorama a la Química Medicinal, para el Estudio Integral del Tejocote debido a todas las propiedades medicinales que se reportan sobre esta especie abundante en nuestro País.

1. TEJOCOTE

1.1. - SIGNIFICADO ETIMOLÓGICO Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

El término *TEJOCOTE* proviene del náhuatl: tetl.- piedra, cosa dura y xocotl.- fruta ácida. Texocotl: tejocote.- fruta ácida y dura. El tejocote es una planta que da frutos parecidos a la ciruela, de color amarillo. Su clasificación taxonómica es³:

| | |
|----------|----------------------------|
| Reino: | Vegetal, fanerógama |
| Clase: | Angiosperma, dicotiledonea |
| Familia: | Dialipétalos, rosaceae. |
| Orden: | Rosales. |
| Género: | <i>Crataegus</i> . |

En México tenemos 10 especies de este género⁴:

| |
|----------------------------------|
| a) <i>Crataegus baroussana</i> . |
| b) <i>Crataegus crus-galli</i> . |
| c) <i>Crataegus greggiana</i> |
| d) <i>Crataegus mexicana</i> . |
| e) <i>Crataegus nelsoni</i> . |
| f) <i>Crataegus parryana</i> |
| g) <i>Crataegus pubescens</i> . |
| h) <i>Crataegus rocsi</i> . |
| i) <i>Crataegus stipulosa</i> . |
| j) <i>Crataegus subserrata</i> |

1.2. - DESCRIPCIÓN Y UTILIDAD DEL TEJOCOTE.

El tejocote tiene sustancias químicas que lo hacen importante para el consumo humano en las áreas alimentaria, de la salud, industrial y ornamental.

En las tablas 1.2.1 y 1.2.2 se muestra la parte de la planta de tejocote, sus usos en general, particularmente los medicinales⁵:

³ Phipps J. B., Ann Missouri Bot. Gard 70, (1983), pp. 667-700.

⁴ Anónimo, 1930. Zonas productoras de tejocote. Bol. Mensual del Departamento de Economía y Estadística No. 44, Secretaría de Fomento.

⁵ Borys M. W. Primer Congreso Nacional sobre Floricultura en México. Memoria XI, 20-23, (1989), pp. 94-109.

TABLA 1.2.1 USOS DE LA PLANTA DE TEJOCOTE⁶

| PARTE | USOS |
|----------------|--|
| Raíz y corteza | Medicinal |
| Fruto | Consumo en Fresco, procesamiento casero e industrial, ornamental y medicinal |
| Ramas y tronco | Leña y madera industrial |
| Flores | Medicinal y ornamental |

TABLA 1.2.2 USOS MEDICINALES DEL TEJOCOTE⁷

| PARTE DE LA PLANTA | USOS |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Fruto cocido | Tos |
| Raíz y corteza | Diurético |
| Ramas (especie no clasificada Qro.) | Tos |
| Tejocote (C. mexicana) | Acción cardiaca auriculoventricular |
| (crategina y taninos) | retarda la frecuencia cardiaca |
| Flor (infusiones) | Problemas de presión arterial |

El tejocote se emplea también como forraje, como árbol de ornato y para diversas funciones en los sectores pecuario, forestal y ecológico de la ciudad. Los árboles de tejocote son medianos, acopados y de madera recia. Pueden ser silvestres o cultivados. Los silvestres se propagan por semillas o por retoños radicales; los cultivados, o de injerto o mejorados, son de propagación clonal por injerto; éste es un proceso de selección o domesticación local⁸. Su valor ecológico se debe a que tiene muchas propiedades similares al maíz, a su evolución y a su adaptación a condiciones edafológicas y climáticas diversas. Existen 2 tipos de Tejocote⁹:

1. De características Xerofílicas (planta que vive en medios secos).
2. De características Suculentas (planta que posee órganos carnosos y ricos en agua).

1.3. – PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DEL TEJOCOTE.

Los árboles entre 9 y 12 años producen de 22 a 28 tn/año/ha, en plantaciones de temporal. El tamaño de los frutos varía de 0.5 a 4.5 cm de diámetro. La relación pulpa - hueso varía del 67 al 86% de materia seca¹⁰. Durante la cosecha esta relación varía de un 20 a un 30% en promedio. El tejocote fructifica anualmente, presenta un muy buen mecanismo de aprovechamiento económico del agua disponible, ya que, la floración se lleva a cabo en la temporada sin lluvias y sin riego, además el 50% del tamaño final del fruto se obtiene durante el periodo seco. La floración para frutos tempranos ocurre desde

⁶ Borys M. W., Primer Congreso Nacional sobre Floricultura en México. Memoria XI, 20-23, (1989), pp. 94-109.

⁷ Ibidem.

⁸ Ibidem.

⁹ Ibidem.

¹⁰ Borys M. W., Memorias del II Congreso Nacional de Horticultura Ornamental. Puebla (1990).

enero, para frutos tardíos en mayo; la maduración de los frutos tempranos se da a principios de septiembre u octubre y la de frutos tardíos en noviembre, diciembre y enero. Los árboles injertados tienen mejores características, mayor tamaño, mejor color y presentación, florecen tardíamente y la madurez de los frutos se presenta en los meses de noviembre y a mediados de diciembre.

En el tejocote tipo criollo (*Crataegus mexicana*), varía mucho la firmeza de la pulpa y la jugosidad. Las coloraciones de la cáscara y de la pulpa determinan su calidad. El tejocote criollo se desarrolla en todas latitudes y altitudes de la República Mexicana sobre todo en las zonas del estado de México, Puebla, Hidalgo, Chiapas¹¹.

El tejocote mejorado (*Crataegus pubescens*) crece en las latitudes 19 y 20 grados (alturas desde 400 a 3000 msnm). Sus plantaciones mejoran el clima, reducen la temperatura del suelo, reducen la velocidad del viento evitando la erosión del suelo, incrementan la humedad relativa, aumentan la polinización, incrementan el rendimiento de los cultivos asociados a él (maíz y frijol), resuelven el problema de escasez de agua porque reducen la evaporación ya que el tejocote es caducifolio, mejoran el ambiente agrícola, aportan sus hojas a la materia orgánica del suelo por lo que disminuye su erosión, la raíz al morir también aporta materia orgánica, mejorando la permeabilidad del suelo, aunque reduce su fertilidad hasta que termina de descomponerse, favorecen la reducción del CO₂ transformándolo en carbohidratos y aportando oxígeno a la atmósfera. Además las hojas, las flores y los frutos aportan productos volátiles fitocidas que los hacen resistentes a plagas y enfermedades¹².

La producción Nacional, según datos de la Secretaría de Agricultura y Ganadería desde 1982 a 1991 oscila entre 25,000 y 35,000 tn de tejocote/año¹³. La tabla 1.3.1 muestra la producción de tejocote en diferentes estados de la República, en ella se observa que los principales productores son el Estado de México, Michoacán y Puebla que contribuyen con el 60.0 % de la producción Nacional. Además la proporción del territorio en donde se produce tejocote es el 60% de la superficie total del País. Lo anterior se puede apreciar mejor en la figura 1.3.1.

¹¹ Phipps J : B., Ann Missouri Bot. Gard 70, (1983), pp. 667-700.

¹² Hígareda Ruiz A., Memorias del I Encuentro Nacional del Tejocote. (1991), pp. 23-33.

¹³ Idem.

TABLA 1.3.1 PRODUCCIÓN DE TEJOCOTE EN EL AÑO DE 1989¹⁴

| REGIÓN | ESTADOS | Ha. | Tn. |
|--------|-------------------|------|-------|
| I | Jalisco | 370 | 2000 |
| | Michoacán | 690 | 5500 |
| II | Guerrero | 80 | 800 |
| | Puebla | 350 | 3700 |
| | Oaxaca | 80 | 800 |
| III | Chiapas | 380 | 3100 |
| | Tlaxcala | 380 | 1700 |
| IV | Durango | 50 | 500 |
| V | Guanajuato | 50 | 400 |
| VI | Hidalgo | 200 | 1000 |
| | Edo. de Méx. | 660 | 7600 |
| | Morelos | 40 | 600 |
| | Veracruz (Jalapa) | 50 | 300 |
| TOTAL | | 3100 | 28000 |

FIGURA 1.3.1 DISTRIBUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE TEJOCOTE EN LA REPÚBLICA MEXICANA¹⁵

¹⁴ Higareda Ruiz A. Memorias del I Encuentro Nacional del Tejacote. (1991), p. 29.

¹⁵ Idem., p. 24.

La tabla 1.3.2 muestra la producción municipal de tejocote, esta información es útil para poder ubicar empresas agropecuarias que lo industrialicen y extraigan pectina.

TABLA 1.3.2 PRODUCCIÓN MUNICIPAL DE TEJOCOTE¹⁶

| EDO. Y MUNICIPIO | VOL. DE PRODUCCIÓN ABSOLUTA (Kg.) | RELATIVO AL ESTADO | EPOCA COSECHA |
|------------------------|-----------------------------------|--------------------|---------------|
| Méx. Jilotzingo | 2500000 | 41.04 | dic. |
| Méx. Ozumba | 719000 | 11.81 | oct.- dic. |
| Méx. Valle de Bravo | 525000 | 8.62 | nov.- dic. |
| Mich. Santa Clara | 1000000 | 22.09 | oct.- ene. |
| Mich. Los Reyes | 663000 | 14.65 | dic. |
| Pue. Texmelucan | 736000 | 24.64 | oct.- nov. |
| Pue. Huejotzingo | 400000 | 13.39 | oct.- nov. |
| Chis. Teopisca | 1000000 | 40.32 | dic.- ene. |
| Chis. Copainalá | 553500 | 22.32 | mar.- abr. |
| Jal. Mazamitla | 720000 | 42.59 | ago.- sep. |
| Jal. Atemajac | 525000 | 31.06 | ago.- sep. |
| Tlax. Miguel Hidalgo | 225000 | 16.92 | nov.- dic. |
| Tlax. Panotía | 212625 | 15.99 | nov.- dic. |
| Hgo. Tianguistengo | 400000 | 51.48 | ene.- feb. |
| Hgo. Xochicontlán | 125000 | 16.09 | oct.- nov. |
| Gro. Gral. H. Castillo | 250000 | 39.02 | oct.- nov. |
| Gro. L. Bravo | 175000 | 27.95 | oct.- nov. |
| D.F. Tlalpan | 500000 | 84.11 | oct.- nov. |
| Dgo. Otáez | 375000 | 63.67 | ago.- sep. |
| Mor. Tetela | 287600 | 61.80 | oct.- nov. |
| Oax. Zimatlán | 135000 | 35.19 | oct.- nov. |
| Gto. Guanajuato | 245000 | 86.51 | oct.-dic. |
| Ver. M. Escobedo | 157000 | 60.93 | jun.- jul. |
| Qro. Cadereita | 55000 | 70.93 | nov.- dic. |
| Zac. Río Grande | 31136 | 54.91 | nov.- dic. |
| Son. Banamichi | 18000 | 73.07 | dic. |
| Chih. Allende | 21000 | 94.92 | oct.-dic. |
| SLP. Catorce | 6300 | 87.74 | nov.- dic. |

El cultivo del tejocote hasta ahora, se ha utilizado como barrera natural de protección de cultivos básicos como el maíz y el frijol; la producción en estas condiciones es de 8,500 a 9,000 Kg/ha, en promedio. Si se implementaran huertos se calcula que la producción se puede incrementar hasta 90,000 Kg/ha, considerando un tiempo de 5 años entre la plantación del árbol y una producción continua y constante.

¹⁶ Idem. p. 30.

Aproximadamente el 40% de la producción del tejocote se comercializa en la época de octubre a diciembre, desperdiciándose el 60% de ésta. Su empleo se reduce a ser relleno de piñatas, elaboración de bebidas calientes (ponche), elaboración de dulce (almíbar) o bien como fruta fresca. Sin embargo, como se muestra en los diagramas 1.3.1 y 1.3.2, el tejocote puede tener un aprovechamiento integral más diverso.

DIAGRAMA 1.3.1 APROVECHAMIENTO INTEGRAL DEL TEJOCOTE¹⁷

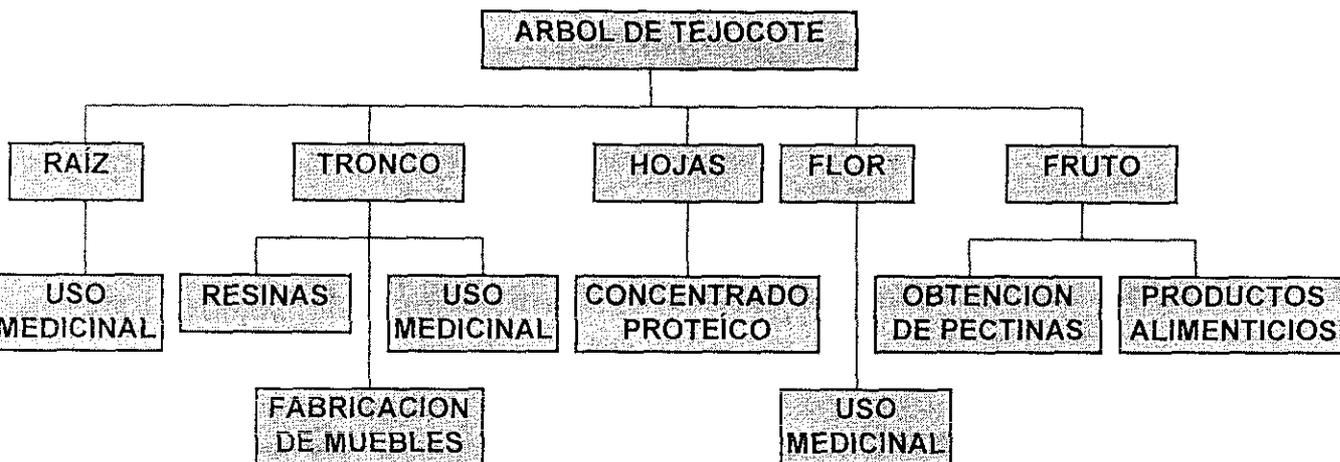
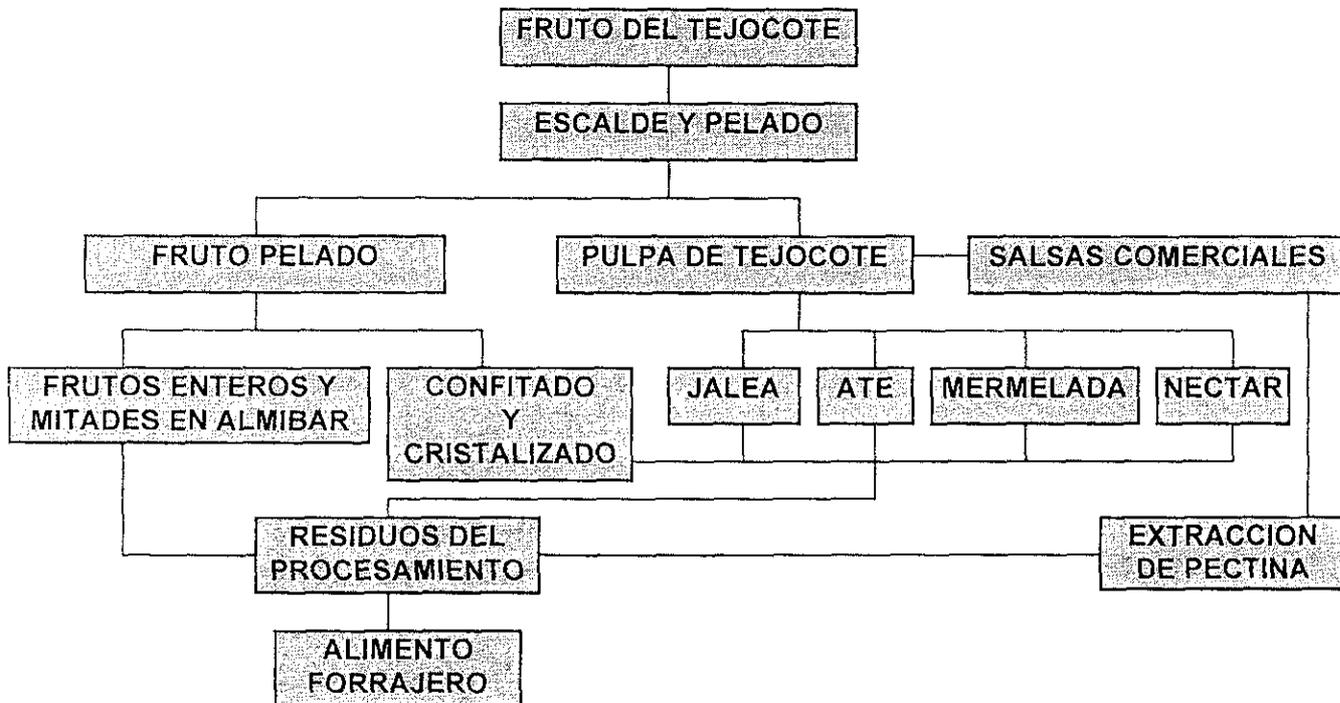


DIAGRAMA 1.3.2 PRODUCTOS ALIMENTICIOS DEL FRUTO¹⁸



¹⁷ Ibidem. p. 32.

¹⁸ ib. p. 32.

1.4. - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y BROMATOLÓGICAS DEL TEJOCOTE.

Es imprescindible conocer las propiedades físicas y químicas de toda materia prima para determinar el tipo de proceso: de empaquetado, de control de peso al llenado, de congelación, térmicos, químicos y para determinar el comportamiento de estos materiales durante el transporte neumático de grandes cantidades. En el caso del tejocote, la caracterización física y química del fruto permite seleccionar y clasificar los más adecuados para la obtención de productos alimenticios y para la extracción de pectina u otros componentes de interés. En la actualidad no hay datos específicos para industrializar el tejocote, algunos encontrados en la literatura sobre tejocote y pectina se presentan a continuación en las tablas 1.4.1 y 1.4.2:

TABLA 1.4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE TEJOCOTE¹⁹

| Característica | Peso y Dimensiones | Componentes del fruto | | |
|-------------------|--------------------|-----------------------|-------|--------|
| | | Peso (g) | | Peso % |
| Peso Promedio (g) | 21.9 | Exocarpio | 1.76 | 6.5 |
| Diámetro (cm) | 3.5 | Mesocarpio | 23.00 | 88.5 |
| Longitud (cm) | 3.5 | Endocarpio | 1.03 | 5.0 |
| Relación L/D | 1.0 | Total | 26.00 | 100.0 |

TABLA 1.4.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL TEJOCOTE²⁰

| Componente | % | Componente | % |
|------------|------|------------|-----|
| Humedad | 83.5 | Sacarosa | 3.6 |
| Cenizas | 0.6 | Pectina | 3.5 |
| Proteínas | 1.7 | Grasa | 0.3 |
| Glucosa | 4.5 | Celulosa | 2.3 |

Las tablas 1.4.3, 4 y 5 muestran los análisis bromatológicos y químicos reportados de la pulpa de tejocote (no indican ni la especie, ni la variedad de la muestra).

TABLA 1.4.3 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA PULPA²¹

| PROPIEDAD | % | PROPIEDAD | % |
|--------------|-----------------|-------------------------|--------|
| Humedad | 82.22 | Goma | 2.55 |
| Cenizas | 0.65 | Grasa | 0.09 |
| Albuminoides | 1.58 Nit. 0.252 | Celulosa por diferencia | 2.27 |
| Glucosa | 4.55 | Total | 100.00 |
| Sacarosa | 6.09 | Calorías | 61.4 |

¹⁹ Beltrán, R. J., Memorias del I Encuentro Nacional del Tejocote. (1991), p. 57.

²⁰ Idem.

²¹ Higareda R. A., Memorias I Encuentro Nacional del Tejocote. (1991), pp. 31.

TABLA 1.4.4 ANÁLISIS QUÍMICO Y BROMATOLÓGICO DE LA PULPA DE TEJOCOTE²²

| | | | |
|--------------------|----------|-----------------|------------|
| Porción comestible | 85.0 % | | |
| Proteínas | 0.80 g | Niacina | 0.40 mg |
| Grasas | 0.60 g | Ácido ascórbico | 46.00 mg |
| Carbohidratos | 16.50 g | Retinol | 424.40 mg |
| Calcio | 94.00 mg | Energía | 87.00 Kcal |
| Fósforo | 33.00 mg | Carbohidratos | 22.00 g |
| Fierro | 1.53 mg | Fierro | 1.60 mg |
| Tiamina | 0.04 mg | Rivoflavina | 0.06 mg |

TABLA 1.4.5 ANÁLISIS PROXIMAL DE LA PULPA DE TEJOCOTE EN BASE HÚMEDA Y SECA²³

| PULPA | BASE HÚMEDA (%) | BASE SECA (%) |
|---------------------|-----------------|---------------|
| Humedad | 84.0 | 08.3 |
| Proteína (N x 6.23) | 01.6 | 04.2 |
| Carbohidratos | 11.3 | 54.9 |
| Fibra Cruda | 02.2 | 30.0 |
| Extracto Etéreo | 00.3 | 00.6 |
| Cenizas | 00.6 | 02.0 |

El tejocote tiene gran importancia por sus propiedades y puede compararse con el maíz, en la tabla 1.4.6, se comparan algunas características forrajeras de ambas especies:

TABLA 1.4.6 COMPARACIÓN DE ALGUNAS CARACTERÍSTICAS FORRAJERAS DEL MAÍZ Y DEL TEJOCOTE²⁴

| | MAÍZ ENTERO | TEJOCOTE |
|--|-------------|----------|
| Extracto libre de nitrógeno | 54.01 | 59.27 |
| Fibra cruda | 28.62 | 24.73 |
| Digestibilidad in vitro de la materia orgánica | 51.15 | 47.28 |
| Digestibilidad in vitro de la materia seca | 48.62 | 44.91 |
| Proteína (N x 6.25) | 4.70 | 5.20 |
| Extracto etéreo | 1.30 | 4.20 |
| Materia seca | 13.70 | 20.20 |

²² ídem. Al comparar los datos anteriores con los proporcionados por el Instituto Nacional de Nutrición solo encontramos algunas diferencias.

²³ Chapela y Mendoza G., Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, México (1977).

²⁴ ídem.

Es importante tener también en cuenta los nutrientes que contiene diferentes partes del tejocote, ya que la pectina o cualquier producto que se extraiga de ellas contendrá parte de dichos nutrientes. En la tabla 1.4.7 se muestra el contenido de algunos elementos en la pulpa y en la 1.4.8 en las hojas.

TABLA 1.4.7 RANGO DE CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES DE MASA SECA DE PULPA DE TEJOCOTE + EPIDERMIS EN 12 TEJOCOTES MEJORADOS²⁵

| | N % | P % | K % | Ca ppm | Mg ppm | Fe pp | Mn pp | Cu ppm | Zn ppm |
|--------|------|------|------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
| Mínimo | 0.30 | 0.03 | 1.14 | 54 | 148 | 2 | 1.4 | n.d. | 4 |
| Máximo | 1.05 | 0.14 | 2.96 | 729 | 363 | 129 | 24.2 | 17 | 100 |

TABLA 1.4.8 RANGO DE CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES EN LAS HOJAS (MATERIA SECA) DE TEJOCOTE CULTIVADO²⁶

| | N % | P % | K % | Ca % | Mg % | Na ppm | Cu ppm | Mn pp | Zn ppm |
|--------|-----|-----|------|------|------|--------|--------|-------|--------|
| Mínimo | 1.3 | 0.1 | 0.61 | 0.67 | 0.26 | 47 | 14 | 13 | 7.9 |
| Máxim | 2.2 | 0.1 | 1.78 | 1.33 | 0.47 | 227 | 19 | 66 | 44.9 |

También han hecho comparaciones nutricionales entre el betabel y el tejocote En la tabla 1.4.9 se muestran los datos que proporcionó el Instituto Nacional de Nutrición:

TABLA 1.4.9 CONTENIDO NUTRICIONAL²⁷

| | BETABEL | TEJOCOTE |
|--------------------|---------|----------|
| Porción comestible | 92% | 85% |
| Energía | 49 Kcal | 87 Kcal |
| Proteínas | 2.1 g | 0.8 g |
| Grasas | 0.2 g | 0.6 g |
| CHO'S | 10.9 g | 22.0 g |
| Ca | 21 mg | 94 mg |
| Fe | 1.5 mg | 1.6 mg |
| Tiamina | 0.02 mg | 0.04 mg |
| Rivoflavina | 0.05 mg | 0.06 mg |
| Niacina | 0.3 mg | 0.4 mg |
| Acido. Ascórbico. | 20.0 mg | 46.0 mg |

²⁵ Borys M. W., Symposium on Diagnosis of Nutritional Status of Deciduous Fruit Orchards, Warsaw-Polank 1989. (ppm: partes por millón).

²⁶ Delgado Bustamante P. A. y Borys M. W., Revista Chapingo 9(45/46), 1984, pp 208-210. (Promedio de 10 árboles).

²⁷ Datos recopilados en el Instituto Nacional de Nutrición.

1.5. - ACONDICIONAMIENTO Y CONSERVACION DE LA PULPA.

1.5.1. - ESCALDADO.

Las operaciones básicas de Ingeniería e Investigación en Alimentos son 4: Preliminares, de Conversión, de Conservación y de Empaque²⁸. Las preliminares son: limpieza, selección y clasificación. En la limpieza se eliminan contaminantes, en la selección se separan las materias primas en categorías por sus características físicas tamaño, forma y color y en la clasificación se eligen por su calidad.

Las operaciones preliminares para preparar la pulpa de tejocote son escaldado del fruto, despulpado manual o utilizando un despulpador y conservación de la pulpa sin oscurecer. Recomiendan utilizar soluciones de NaOH al 4.0%, un tiempo de exposición de 2.0 minutos y una temperatura de 92.0 C para tener un buen escaldado del fruto, una inhibición adecuada del oscurecimiento de la pulpa, una disminución eficaz de la carga microbiana y un ablandamiento del fruto para facilitar su despulpado^{29, 30}.

1.5.2. - CONSERVACIÓN DE LA PULPA DE TEJOCOTE.

Para la conservación de frutos y vegetales se usan ciertas sustancias químicas que actúan como antimicrobianos. Las más empleadas, la concentración máxima recomendada y la dosis letal en ratas³¹, representado como DL₅₀³² son:

- a) Fosfato de sodio. Concentración máxima 0.2%. Uno de los más fuertes antimicrobianos empleado en alimentos. Toxicología ratas: 7.4-10.5 g/Kg.
- b) Sulfito de sodio. Empleado en varios jugos de frutas. Nivel máximo permitido: 350 mg/l. Toxicología ratas: 1000-2000 mg/Kg.
- c) Benzoato de sodio. Cantidad máxima permisible: 0.15-0.25%. Se emplea en pulpa de frutas se adiciona 0.1-0.13%.

Además, recomiendan la refrigeración para conservar frutos y hortalizas. Desde el punto de vista tecnológico el mejor método de conservación de pulpa de tejocote es congelarla a -20.0 C. Desde el punto de vista económico el proceso de refrigeración a -4.0 C de la pulpa en solución de sulfito de sodio 0.02% y de Benzoato de sodio 0.02%³³. El contenido de sustancias pécticas es similar tanto en las especies frescas como en las congeladas³⁴. En productos almacenados y envasados el contenido de pectina de alto metoxilo aumenta en las fracciones solubles en agua, el de pectina de bajo metoxilo aumenta en las fracciones solubles en oxalato y la protopectina decrece en la fracción soluble en hidróxido³⁵.

²⁸ Brennan, J : G. Las Operaciones de la Ingeniería de los Alimentos. 2ª De. Acribia, España (1984).

²⁹ Idem. p. 55.

³⁰ Higareda R. A. I Encuentro Nacional del Tejocote. Memoria. (1991), p. 54.

³¹ Badui D. S. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra. México (1984).

³² Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9ª ed. McGraw – Hill Interamericana, págs. 53 y 70. México 1996.

³³ Rosales Domínguez M. , Higareda R. A y Ruiz Morales J. L.. I Encuentro Nacional del Tejocote. Memorias. (1991), p. 63.

³⁴ Vidal-Valverde C., Pérez López M and Rojas Hidalgo E. J. Agric. Food Chem., 31, 949-953 (1983).

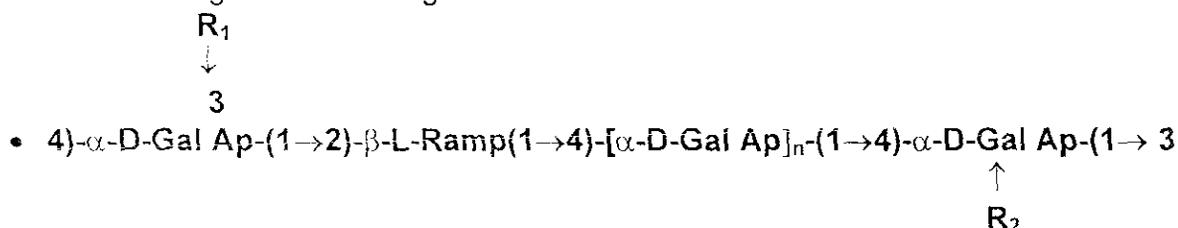
³⁵ Robertson G. L. and Swinburne D. J. of Food Science., 46, 1557-1559 (1981).

2. PECTINAS

2.1. – ESTRUCTURA GENERAL DE LAS PECTINAS.

Las pectinas son heteropolisacáridos, son una mezcla de ácidos pécticos y pectatos. Están constituidas por polímeros lineales regulares de monómeros de ácido galactopiranosilurónico, unidas con enlaces α - D(1,4) - glicosídicos; el grado de metoxilación en las pectinas varía dependiendo de la fuente, método de extracción y tratamiento químico después de la extracción, las pectinas están compuestas también de azúcares neutros como L - arabinosa, D - galactosa y L - ramnosa, así como pequeñas cantidades de D-glucosa, D-manosa y D-xilosa³⁶.

Su estructura general es la siguiente:



en donde:

- $R_1 \Rightarrow [\alpha\text{-D-Galp}]_n\text{-(1}\rightarrow\text{)} \text{ ó } [\alpha\text{-L-Araf}]_n\text{-(1}\rightarrow\text{)}$
 $R_2 \Rightarrow [\beta\text{-D-Xilp}]\text{-(1}\rightarrow\text{)}$
 D - Gal Ap \Rightarrow ácido α - D-galactopiranosilurónico
 L - Ramp \Rightarrow L - ramnopiranososa
 L - Araf \Rightarrow L - arabinofuranosa
 D - Xilp \Rightarrow D - xilopiranososa
 D - Galp \Rightarrow D - galactopiranososa

El término pectinas proviene del griego $\pi\eta\chi\tau\omicron\varsigma$ = coagulado³⁷. Este es un nombre genérico que engloba a las sustancias pécticas. Estas llenan los espacios intercelulares en los tejidos vegetales. En tejidos jóvenes, especialmente en los frutos, las pectinas se encuentran presentes en cantidades tan abundantes que forman canales anchos, apartando a las células entre sí, es decir, las pectinas son carbohidratos estructurales constituyentes de la pared celular vegetal, que se depositan principalmente en la pared primaria y en la lámina media, siendo los tejidos meristemático y parenquimático particularmente ricos en ellas. Estas sustancias pécticas se combinan con la hemicelulosa, ejerciendo una función de "cemento celular"³⁸. Las pectinas con grupos carboxilos libres forman polímeros cruzados con polímeros adyacentes por medio de cationes divalentes³⁹.

³⁶ Fishman M., Pfeffer P. E., Barford R. A. and Doner L. W. J. Agric. Food Chem., 32, 372-378 (1984). Thibault J. F. Phytochemistry, 22 [7], 1567-1571 (1983).

³⁷ Diccionario de la Lengua Española, 19ª Ed. España 1970. p. 1002.

³⁸ Carbonell E., Costell E y Durán L. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 30/1, 1-9 (1990).

³⁹ Morris E. R. Powell D. A. and Rees D. A. J. Mol. Biol., 155, (1982), p. 515. Ib. p. 528.

La pectina es un coloide hidrofílico reversible con gran capacidad de absorber grandes cantidades de agua; esta absorción es rápida por lo que la transfieren a las células con mayor facilidad que la que podría lograrse por ósmosis en las mismas células. Son responsables en buena medida de la firmeza y textura de los frutos y las hortalizas, antes de la maduración de éstos la pectina se encuentra como protopectina, la cantidad de protopectina se reduce cuando los frutos y vegetales van madurando⁴⁰.

Las pectinas se emplean como aditivos porque son valiosos agentes de espesamiento y de formación de geles. Cuando se calientan en agua acidulada vegetales o frutos ricos en pectinas, se libera la protopectina, transformándose en pectina hidrosoluble. Se produce la misma transformación de la protopectina a pectina en los tejidos vegetales durante la maduración⁴¹. La pectina precipita fácilmente de las soluciones acuosas cuando se agrega alcohol o acetona⁴², se forma un coágulo gelatinoso el cuál, es soluble en agua. Esta coagulación también se logra al emplear una mezcla de sales, tales como el Al_2SO_4 junto con NH_4OH , formándose $Al(OH)_3$, cuyas partículas coloidales poseen carga de signo opuesto a la de la pectina⁴³.

La pectina es un coloide cargado negativamente. Sus soluciones son dextrógiras frente a la luz polarizada. La pectina cruda comercial tiene impurezas como hemicelulosa, pentosas, galactosa y otras. Su purificación se lleva a cabo mediante redisoluciones y precipitaciones sucesivas. El peso molecular varía entre 20,000 y más de 400,000 Daltones, en el caso de pectina de manzana el peso molecular de las fracciones varía entre 60,000 y 12.5 millones de Daltones⁴⁴. En las pectinas de cítricos se encuentran con frecuencia azúcares neutros y otros urónidos hasta en un máximo del 20%, como cadenas laterales o como constituyentes de la cadena principal⁴⁵.

Las pectinas derivadas de distintas fuentes varían ampliamente en sus propiedades gelificantes debido a las diferentes longitudes de sus cadenas de ácido galacturónico y al distinto grado de esterificación. También varían mucho según la técnica empleada en la extracción y probablemente no haya dos preparaciones de pectinas idénticas en cuanto a sus estructuras⁴⁶.

La tabla 2.1.1 muestra el contenido de pectina en algunos frutos y vegetales de consumo común⁴⁷.

⁴⁰ Pressey R., Hinton D. M and Avants J. K. J. of Food Science., 36, 1070-1072 (1971).

⁴¹ Food Science and Technology. A series of Monographs. Gum Technology in the Food Industry. Cap. 6 Pectins. (1969), p. 162.

⁴² Thibault J. F. Phytochemistry, 22 [7], (1983), p. 1567.

⁴³ Rolin Claus. Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives, cap. 10, (1992), pp. 263-264.

⁴⁴ O'beirne David and Van Buren J., Journal of Food Science., 48, 276-277 (1983).

⁴⁵ BeMiller J. N. Chemistry and Function of Pectins. Fishman and Jen Editors. Am Chem Soc., USA (1986), pp. 2-12.

⁴⁶ Mansoor Baig M., Burgin Ch and Cerda J. J. Agric. Food Chem., 30, 768-770 (1982).

⁴⁷ Reise S. Food Technology, february, 91-99 (1987).

TABLA 2.1.1 CONTENIDO DE PECTINA EN ALGUNOS FRUTOS Y VEGETALES

| ALIMENTO | PECTINA (g/100g de muestra). | ALIMENTO | PECTINA (g/100g de muestra). |
|---------------|------------------------------|------------------|------------------------------|
| FRUTOS | | VEGETALES | |
| Manzana | 0.78 | Haba | 0.70 |
| Plátano | 0.94 | Remolacha | 0.91 |
| Uva | 0.19 | Brócoli | 0.49 |
| Toronja | 3.90 | Col de Bruselas | 0.78 |
| Naranja | 2.36 | Col roja | 0.53 |
| Durazno | 0.39 | Zanahoria | 2.00 |
| Pera | 0.49 | Lechuga | 0.34 |
| Piña | 0.09 | Cebolla | 0.35 |
| Ciruela | 0.44 | Chícharo | 0.34 |
| Fresa | 0.75 | Papa | 0.83 |
| Melón | 0.18 | Frijol de soya | 3.45 |
| | | Espinaca | 0.33 |
| | | Tomate | 0.20 |

2.2. - CLASIFICACIÓN DE LAS PECTINAS.

Las cadenas poliurónicas están esterificadas en varios grados, por lo que podemos definir una clasificación para pectinas según el grado de esterificación (DE)⁴⁸. El grado de esterificación se refiere al % de grupos carboxilos esterificados con metanol o etanol⁴⁹. El grado de esterificación o metoxilación depende de las condiciones de extracción⁵⁰. Las clasificaciones encontradas en la literatura son:

- Alto metoxilo: > 50%
- Bajo metoxilo: < 50%
- Alto metoxilo: >21.0 % (gelifican al agregar azúcar y se les conoce como geles ácidos).
- Bajo Metoxilo: <21.0 % (gelifican con Ca, empleada en alimentos para diabéticos).

Las cadenas también pueden estar parcialmente acetiladas en los carbonos 2 y 3 de las unidades del ácido galacturónico (v.g., pectina de la remolacha), o formar amidas. La estructura regular se rompe cuando interaccionan unidades de L - ramnopiranosil con sitios de la cadena que tengan un azúcar neutro⁵¹.

2.3. - PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS PECTINAS.

Una de las propiedades más importante de las pectinas es la formación de GELES, ésto sucede cuando la cadena del polímero interactúa consigo misma, o con otras cadenas, formando puentes de hidrógeno, que estabilizan la estructura molecular, para formar una red de 3 dimensiones. Otra manera de formar el gel se logra por interacciones hidrofóbicas añadiendo agentes deshidratantes, a pH de 3. Es decir, la estabilidad de la

⁴⁸ Glucksman Martin Editor. Food Hydrocolloids, (1973), pp. 4-14 y 206-227.

⁴⁹ McComb E. A and McCreedy R. M. Analytical Chem., 29 [5], 819-821 (1957).

⁵⁰ Oakenfull D and Scott A. Journal of Food Science., 49, 1093-1098 (1984).

⁵¹ Food Colloids, Avi Publishing Co., Westport (1977), pp. 418-437.

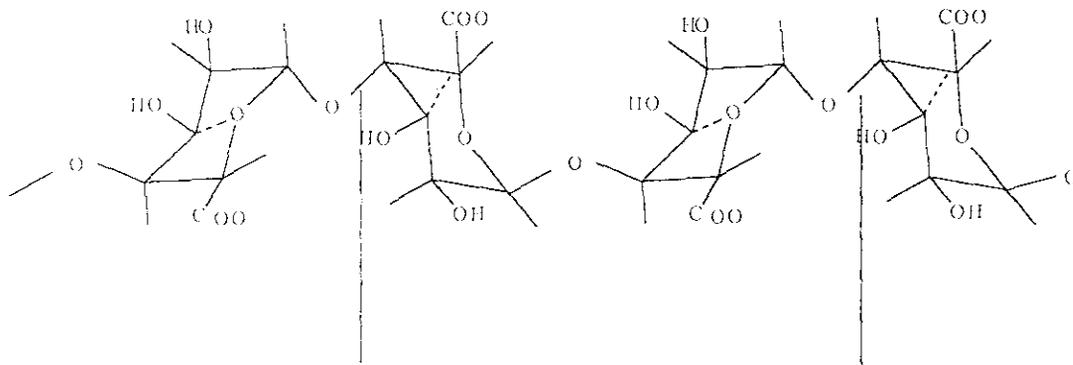
red se modifica cuando se añaden azúcares o polioles, etanol, terbutanol o dioxano, por cambios de temperatura, o bien por formación de puentes en cruz con cationes divalentes⁵² (modelo de la caja de huevo) como los alginatos. En general el grado de gelificación es proporcional al peso molecular y al 1/ DE, depende del tamaño del gel y de la temperatura de gelación.

Otra propiedad que en este trabajo fue fundamental en el desarrollo del método de extracción es que LAS PECTINAS SON SOLUBLES EN AGUA. También son solubles en formamida, etilendiamina y glicerol caliente⁵³. El ácido pectínico obtenido de la fracción acuosa de frutos cítricos tiene una desviación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 219$ ⁵⁴, esta fracción contiene L - arabinosa, D - galactosa, D - glucosa y L - ramnosa. Algunos valores de pK_a para las soluciones de pectina que han reportado son⁵⁵:

| pK_a | DE (%) |
|--------|--------|
| 3.55 | 65.0 |
| 4.10 | 0.0 |

Las pectinas presentan un efecto Cotton positivo debido a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de los grupos carboxilo $\lambda = 210 \text{ nm}$.⁵⁶ Y una absorción en la región Ultravioleta debida a los grupos carbonilo determinada por el medio químico. Ésta se afecta por cambios conformacionales intra o intermolecular.

Los estudios de RMNH¹ y RMNC¹³ de pectina cítrica concluyen que la unidad monomérica de ácido poli (1→4) - α - D - galacturónico tiene una conformación de silla, que cambia al agregar Ca^{2+} en diferentes concentraciones, probablemente debido a una asociación de multicadenas, lo cual se comprueba con la disminución de las señales en RMNC¹³. Experimentos que determinan coeficiente osmótico, viscosidades intrínsecas y RMN muestran la formación de un gel rígido de uniones cruzadas que confirma una agregación de multicadenas en conformación de silla distribuidas aleatoriamente en el gel. La asociación de multicadenas se explica con el modelo de la de caja de huevo⁵⁷.



⁵² Thibault J. F. British Polymer Journal, 17 [2], 181-184 (1985). Morris E. R., Powell D. A., Gidley M. J and Rees D. A. J. Mol. Biol., 155, 507-516 (1982). Idem., 155, 517-531 (1982).

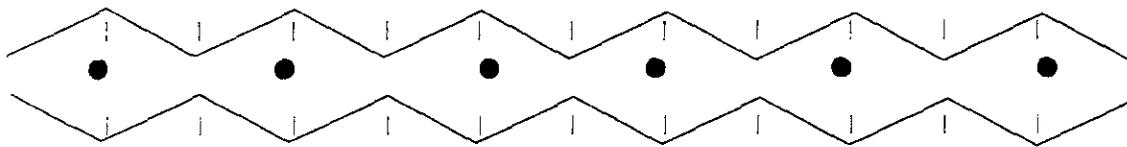
⁵³ Deuel H and Stutz E. Advances in Enzymology and related subjects of Biochem. USA (1958). p. 353.

⁵⁴ Siddiqui I.R. J. Agric. Food Chem., 38, 70-74 (1990).

⁵⁵ Rollin C and De Vries J. Elsevier Applied Food Science. Series Food Sciences, Food Gels, cap. 10 (1990), p. 412.

⁵⁶ Grant G. T., Morris E. R., Rees D. A., Smith P. J. C and Thom D. FEBS Letters, 32 [1], 195-198 (1973). Gillard R. D. The Cotton Effect in Coordination Compounds, 216-272, England (1966).

⁵⁷ Rinaudo M., Ravanat G. Makromol. Chem., 181, 1059-1070 (1980).



MODELO DE LA CAJA DE HUEVO

2.3.1. - PECTINA COMO AGENTE GELIFICANTE Y EMULSIFICANTE.

Las pectinas se emplean en diversas industrias debido a su capacidad para formar geles y emulsiones⁵⁸. Para que una pectina forme un gel debe existir un agente deshidratante como azúcar, alcohol, acetona y algunos polioles como el sorbitol. En la producción de jaleas y gelatinas debe tenerse una proporción adecuada de pectina - ácido - azúcar, a pH de 3.46 se obtiene un gel suave y delicado, que aumenta su estabilidad al disminuir el pH hasta un límite entre 3.1 y 3.2; a valores menores se produce sinéresis⁵⁹. Un ácido pectínico totalmente esterificado tiene, teóricamente, 16% de grupos metoxilo, las pectinas naturales tienen entre 9.5 y 11.0%. Los ácidos pectínicos esterificados en un 8% son adecuados para formar gelatinas⁶⁰. Las pectinas se evalúan según el "grado de pectina" expresado como el número de partes de azúcar que gelifica una parte de pectina para obtener una firmeza dada (v.g., a pH = 3.2 a 3.5, 65 a 70% de azúcar y 0.2 a 1.5% de pectina). También difieren en su "tiempo de establecimiento": un "establecimiento rápido" inicia alrededor de los 85.0 C, mientras que un "establecimiento lento" forma el gel por debajo de 55.0 C. Las pectinas se caracterizan por su grado de gelificación, su grado de metoxilación y la velocidad de solidificación⁶¹. El poder gelificante aumenta con el peso molecular. El grado de metoxilación determina el mecanismo de formación del gel, la velocidad y temperatura de establecimiento; las pectinas de alto metoxilo son de establecimiento rápido. A un mismo grado de esterificación, las pectinas con mayor grado de polimerización requieren menores tiempos de establecimiento⁶².

Las soluciones de pectinas son viscosas y presentan un comportamiento pseudoplástico. La viscosidad de las soluciones de pectinas depende del pH, a valores altos, los carboxilos libres se disocian y forman centros cargados negativamente que se repelen entre sí, la viscosidad aumenta. El efecto del pH sobre la viscosidad es mayor en las soluciones de pectinas de bajo metoxilo. Si las moléculas de pectina se mantienen como cadenas separadas, la solución es muy viscosa, pero no formará un gel rígido. La gelificación requiere la formación de estructuras tridimensionales de las cadenas que inmovilicen grandes porciones de líquido en la red, sin llegar a una solución acuosa neutra de pectina, en donde hay dos factores que impiden la unión intermolecular:

⁵⁸ Masamichi Koseki, Naofumi Kitabatake, Etsushiro Doi, Tetsuko Yasuno, Shuzo Ogino, Adido Ito and Fusayoshi Endo. *Journal of Food Science.*, 51 [5], 1329-1332 (1986).

⁵⁹ Rolin C. *Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives.*, cap. 10, 267 (1992).

⁶⁰ *Food Science and Technology. A series of Monographs. Gum Technology in the Food Industry. Cap. 6 Pectins.* (1969), p. 165 - 167.

⁶¹ Crandal P. G and Wicker L. *Pectin Internal Gel Strength.* Fishman and Jen Editors. *Am Chem Soc.*, USA (1986), pp. 88 - 94.

⁶² Glicksman Martin Editor. *Food Hydrocolloids*, (1973), pp. 220 - 227.

1. Las pectinas se encuentran tan hidratadas, que las condiciones son más favorables para que existan las uniones agua - pectina que pectina - pectina;
2. Como polielectrolitos parcialmente ionizados, las moléculas de pectina se repelen entre sí. Para contrarrestar esto la pectina debe deshidratarse y disminuir su disociación mediante un descenso del pH.

Con pectinas de bajo metoxilo la estructura tridimensional se forma mediante puentes con Ca^{2+} entre los carboxilos libres. El gel de pectato de calcio es más rígido y no se requiere ácido ni azúcar para formarlo, por lo que se emplea para elaborar conservas de bajo contenido de azúcar para fines dietéticos y terapéuticos en diabetes⁶³. La cantidad de pectina requerida para formar geles disminuye con el grado de metoxilación. Su resistencia depende del grado de esterificación. Este tipo de geles se emplean para enlatar frutas muy maduras cuya textura es demasiado suave debido a la excesiva degradación de las sustancias pécticas naturales, en tales casos las sales de calcio, originan pectatos de calcio en las células de las frutas, fortaleciendo su textura⁶⁴.

Las pectinas de alto metoxilo 70% o mayor son de establecimiento rápido, forman geles al agregarles azúcar a temperaturas elevadas. A mayor peso molecular, mayor es la resistencia del gel. Las pectinas de establecimiento lento tienen un grado de metoxilación entre 50-70%, forman geles al agregarles azúcar y ácido; el pH óptimo es entre 2.8 - 3.2 a temperaturas más bajas⁶⁵.

2.4. - REACCIONES QUÍMICAS DE LAS PECTINAS.

Las reacciones químicas propias de las pectinas son como las que se llevan a cabo en los polisacáridos: esterificación, deesterificación, depolimerización, hidrólisis, etc.⁶⁶

La deesterificación y depolimerización ocurren a valores de pH > 4.0, sin embargo reportan que a temperatura ambiente y a valores de pH entre 5.0 - 6.0 las pectinas son estables. Algunas pectinas presentan la depolimerización en condiciones alcalinas y se llevan a cabo mediante una β - eliminación.⁶⁷

Las pectinas pueden sufrir hidrólisis por ácidos, álcalis o por acción enzimática. La primera etapa de dichas hidrólisis es la eliminación de un número variable de grupos metoxilos ($\text{CH}_3\text{O}-$) y/o acetilo, quedando finalmente ácido poligalacturónico o ácido péctico, completamente libre de metoxilos⁶⁸. Los compuestos que poseen un número variable de estos grupos, dan origen a diversos ácidos pectínicos; que varían en su grado de polimerización y de esterificación. Nunca se ha encontrado en la naturaleza un ácido pectínico completamente esterificado, pero, puede sintetizarse para fines de investigación⁶⁹. La hidrólisis completa del ácido péctico produce unidades de ácido D -

⁶³ Glicksman Martin Editor, Food Hydrocolloids, (1973), pp. 208 - 210.

⁶⁴ Idem.

⁶⁵ Dziezak Judy D. A Focus on Gums, Special Report, Food Technology, (1991), pp. 127 - 128.

⁶⁶ Lindberg B., Lönngrén J and Svensson S. Advances in Carbohydrate Chem. And Biochem., 31 185-239, Academic Press, USA (1975).

⁶⁷ Idem nota 2.

⁶⁸ Rolin Claus, Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives, cap. 10, (1992), pp. 271-274.

⁶⁹ Lindberg B., Lönngrén J and Svensson S. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Vol 31, USA (1975), Academic Press, pp. 214-220.

galacturónico⁷⁰. En general la hidrólisis suave de pectina se lleva a cabo mediante reflujo con HCl 0.5N, o bien con H₂SO₄ al 1.0%. Una hidrólisis total de los polisacáridos se consigue al ponerlos a reflujo con una solución 2.0 M de ácido trifluoroacético por 1.0 h a 120 C, con un pretratamiento de H₂SO₄ al 72.0% durante 1.5 h a 20.0 C seguido de una dilución hasta una concentración 1.0 M y calentando a 100.0 C por 2.5 h.⁷¹

La depolimerización se lleva a cabo por vía enzimática y por vía química. Los preparados industriales de mezclas de enzimas pectolíticas se elaboran a partir de hongos y se venden con nombres comerciales de "pectinol" y "milasa"⁷² entre otros. Algunas enzimas empleadas son: pectinesterasas y pectoliasas.

2.5. - EXTRACCIÓN DE PECTINA.

Para poder estudiar una sustancia química es necesario sintetizarla, extraerla si es un producto natural o separarla si está contenida en una mezcla. Para caracterizar a la pectina debe extraerse y purificarla. Se reportan varios métodos de extracción, tanto a nivel laboratorio como industrial⁷³ para otras pulpas y cáscaras y un método general de purificación. En donde se mencionan varios agentes extractantes que han sido empleados de manera general para obtener la pectina de los medios naturales: HCl⁷⁴ y HNO₃ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M), NaOH⁷⁵ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M), AlCl₃⁷⁶ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M), Na₂EDTA⁷⁷ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M), Na₂HPO₄ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M) y/o hexametáfosfato de sodio (2.0%)⁷⁸, Ácido Oxálico⁷⁹ (soluciones acuosas desde 0.01 hasta 1.0 M), entre otras⁸⁰.

Se ha recurrido a efectuar extracciones secuenciales empleando varios agentes extractantes para obtener la pectina total. En los métodos industriales reportados no se especifican las condiciones de extracción y recuperación, en general son diagramas de flujo con indicaciones muy escuetas⁸¹.

En los diagramas 2.5.1 al 6 se muestran algunos métodos reportados para la extracción de pectina en pulpas de vegetales y/o frutos y en el 2.5.7 su purificación.

⁷⁰ BeMiller J. N. Chemistry and Function of Pectins. Fishman and Jen Editors. Am Chem Soc., USA (1986), pp. 2-12.

⁷¹ Carré B., Brillouet J. M and Thibault J. F. J. Agric Foos Chem., 33 [2], 285-292 (1985).

⁷² Kertesz Z. I. The Pectic Substances. USA (1951), pp. 333- 336; 376-378.

⁷³ Kertesz, Z. I. The Pectic Substance. Interscience Publishers, INC., N. Y., 94-129 (1951).

⁷⁴ Michel J., Thibault J. F., Mercier F. H and Poullaude F. Journal of Food Science., 50, 1499-1500 (1985). Alexander M. M and Sulebele G. A. J. of Food Science and Tech. 17, july-august, 180-182 (1980).

⁷⁵ Idem.

⁷⁶ Rolin C. Industrial Gums, Polysaccharides an their derivates, cap. 10 263-264 (1992). Astete M. I. G y Bifani V. Revista Española de Ciencia y Tecnología de alimentos, 32 [2], 185-197 (1992).

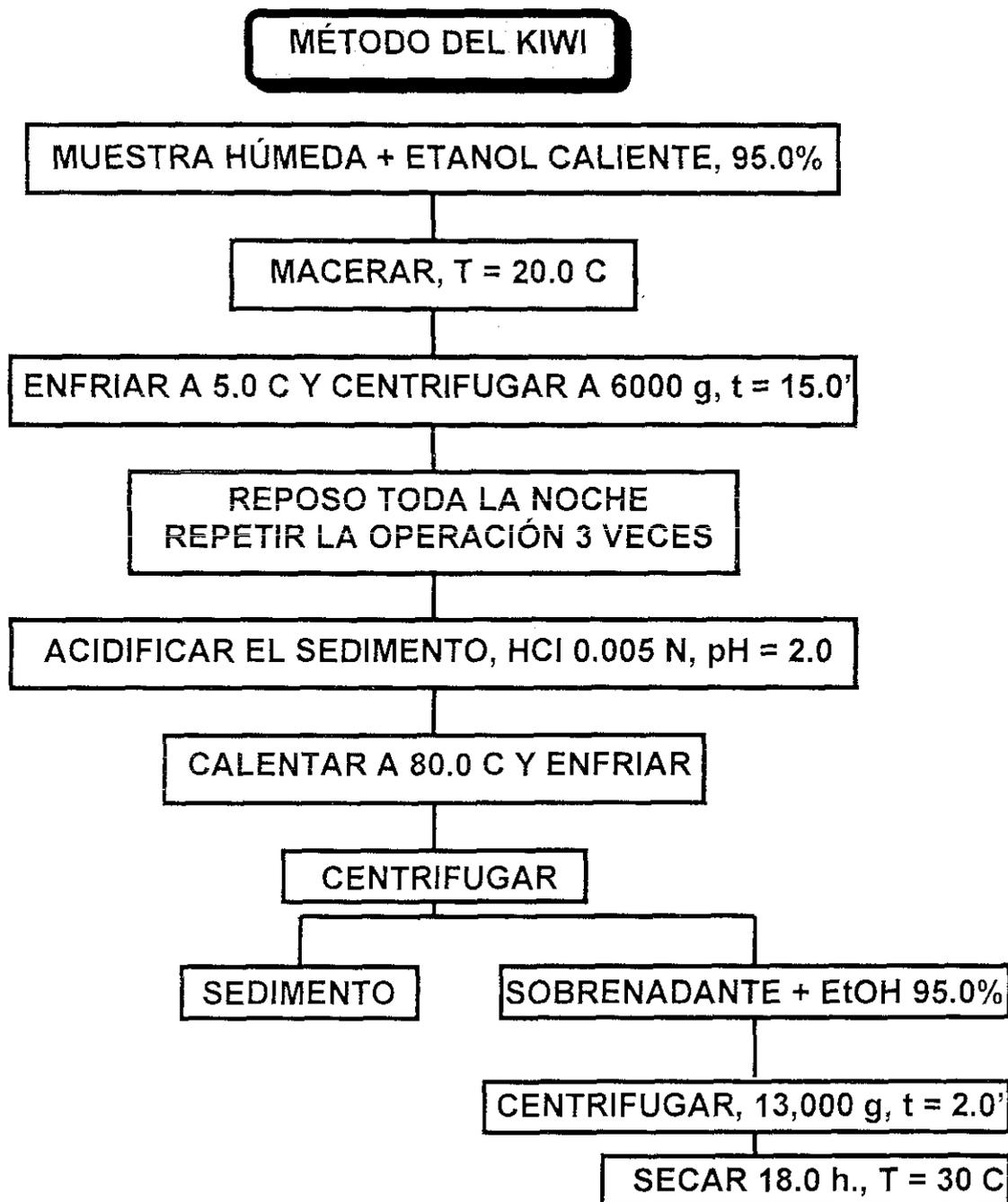
⁷⁷ Sajjaanantakul T., Van Buren J. P and Downing D. L. Journal of Food Science. 54, [5], 1272-1277, (1989). Idem., 47,173-176 (1981).

⁷⁸ Boothby D., Phytochemistry. 19, (1980), pp. 1949 - 1953.

⁷⁹ Beio P. S and O. de Lumen B. J. Agric. Food Chem., 29 [2], 370-373 (1981). Idem., 28, 1169-1174 (1980).

⁸⁰ Phatak L., Chang K. C and Brown G. Journal of Food Science. 53, [3], 830-833, (1988).

⁸¹ Rolin C. Industrial Gums, Polysaccharides an their derivates., cap. 10, 263-264 (1992). Quijano Cervera E. Y Mejia S. G. Rev. Soc. Quím. Méx. 36 [[5], 202-210 (1992). Pedroza Islas R., Aguilar-Esperanza E and Vernon-Carter E. J. Environmentaly Responsible Food Processing AIChE Symposium Series No. 300, 90, 36-41 (1994).

DIAGRAMA 2.5.1 EXTRACCIÓN DE PECTINA A PARTIR DE LA PULPA DE KIWI⁸²

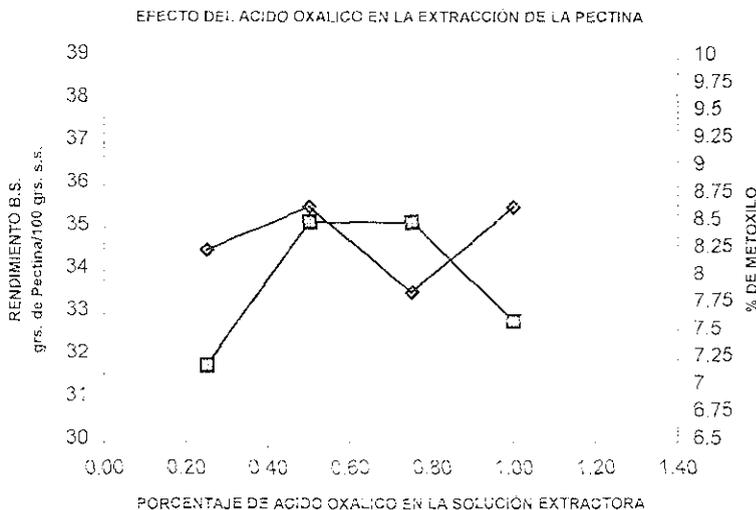
⁸² Lodge N., Nguyen T. T and Mc. intyre D. Journal of Food Science, 52, [4], 1095-1096, (1987).

Se reporta que el ácido oxálico incrementa el rendimiento de extracción de la pectina⁸³. En la tabla 2.5.1 se muestran las condiciones de extracción. Se puede observar en la gráfica 2.5.1 que el mayor rendimiento se obtiene con las concentraciones de 0.5 a 0.75% y que a 0.25% y 1.0% de ácido oxálico el rendimiento decrece.

Se supone que el ácido oxálico forma compuestos de coordinación con los iones divalentes y monovalentes, principalmente: Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ y Na^+ , que mantienen unida a la pectina con la celulosa, hemicelulosa, lignina, aminoácidos y demás carbohidratos de las células, logrando de esta forma un mayor rendimiento en la extracción. En la literatura se han reportado como condiciones de extracción: temperatura de ebullición, pH entre 1.0 y 4.0, tiempos de extracción del 1.0 a 2.5 horas y volúmenes de extracción del 50 al 90%.

TABLA 2.5.1 CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LA PECTINA DE LA PULPA DE TEJOCOTE⁸⁴

| Parámetro | Valor |
|--|------------|
| Temperatura | 85.0 C |
| PH | 1.5 |
| Tiempo de extracción | 1.5 horas. |
| Proporción Materia prima/Solución Extractora | 5%/95% |
| Concentración de ácido oxálico | 0.5% |



GRÁFICA 2.5.1. - EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ÁCIDO OXÁLICO

En el diagrama 2.5.2 se muestra la extracción de pectina empleando ácido oxálico como agente extractante.

⁸³ Belo P. S and O. de Lumen B. J. Agric. Food Chem., 29 [2], 370-373 (1981). Idem., 28, 1169-1174 (1980).

⁸⁴ López Miranda J. L., Higareda Ruiz A., Ruiz Morales J. L y Rosales Domínguez M. A. i Encuentro Nacional del Tejocote. Memorias. México (1991), p. 72.

DIAGRAMA 2.5.2 EXTRACCIÓN GENERAL DE PECTINA A PARTIR DE LA PULPA DE FRUTOS EMPLEANDO ÁCIDO OXÁLICO⁸⁵**MÉTODO DE EXTRACCIÓN CON ÁCIDO OXÁLICO**

2 PARTES DE AGUA + 1 DE PULPA, pH = 5.0

SOLUCIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO, 0.5%

MEZCLAR

REPOSO 48.0 h.

CENTRIFUGAR

SOBRENADANTE + ETANOL

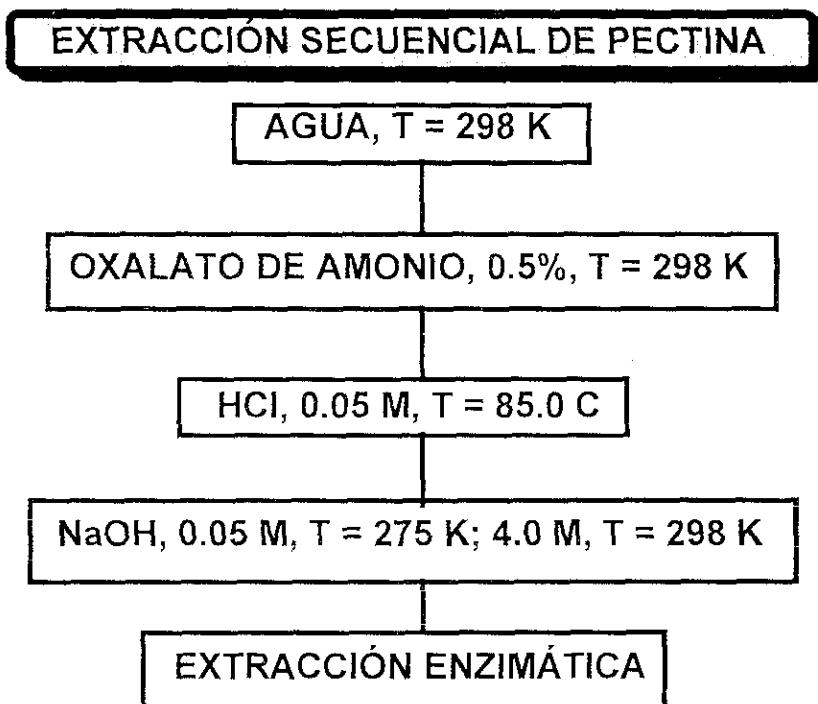
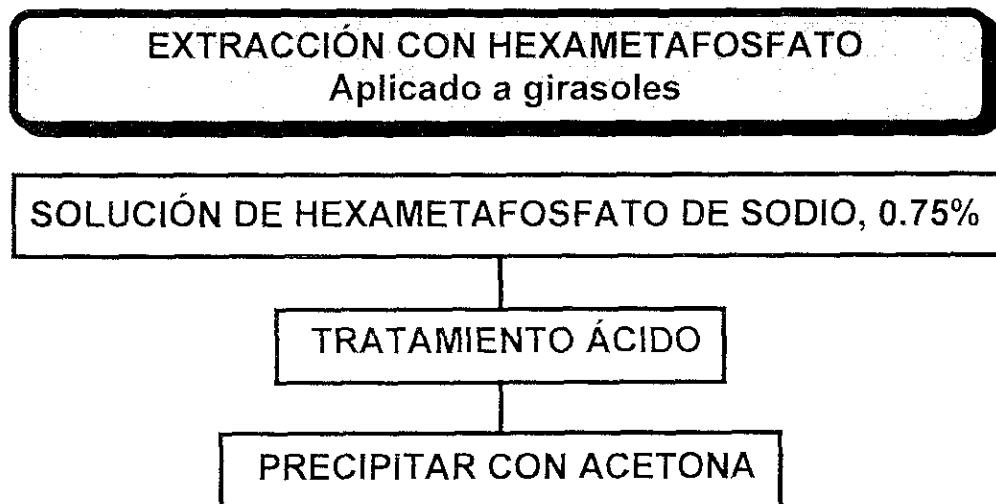
CENTRIFUGAR

REDISOLUCIÓN DE PECTINA, 10.0 ° BRUX.

SECADO POR ASPERSIÓN

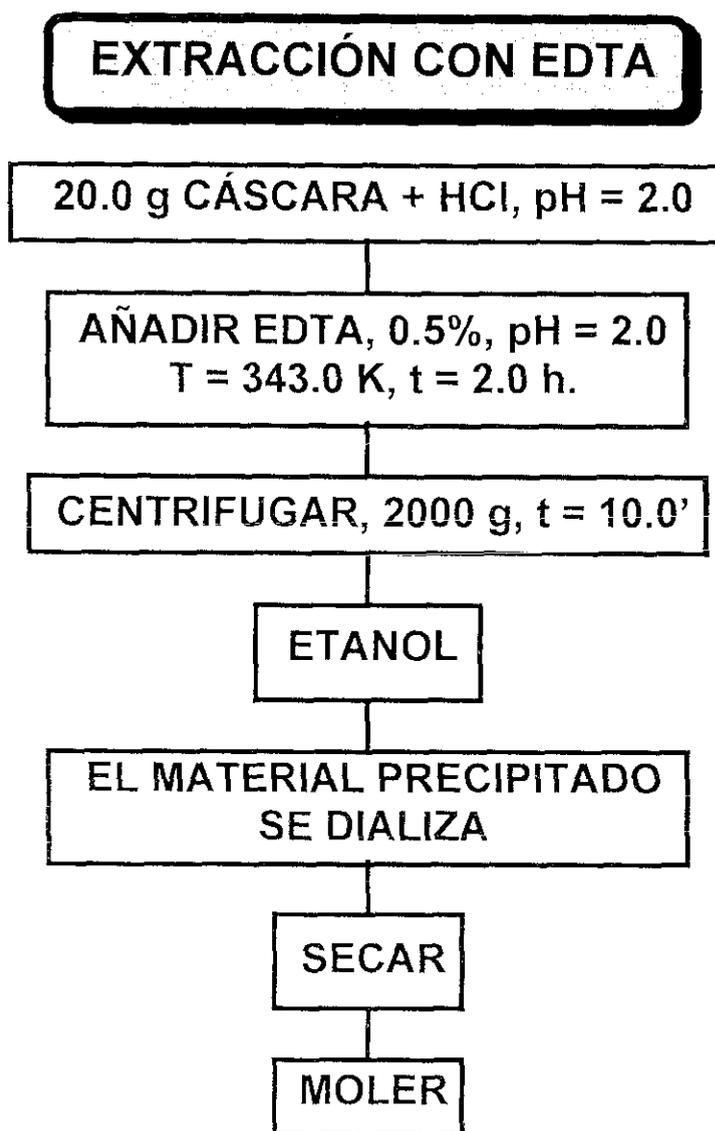
MOLIENDA, EN MALLA 100

⁸⁵ Belo P. S and O. de Lumen B.J. Agric. Food Chem., 29 [2], 370-373 (1981). Idem., 28, 1169-1174 (1980).

DIAGRAMA 2.5.3 EXTRACCIÓN EN SECUENCIA DE PECTINA⁸⁶DIAGRAMA 2.5.4 EXTRACCIÓN DE PECTINA EMPLEANDO HEXAMETAFOSFATO COMO REACTIVO EXTRACTANTE⁸⁷

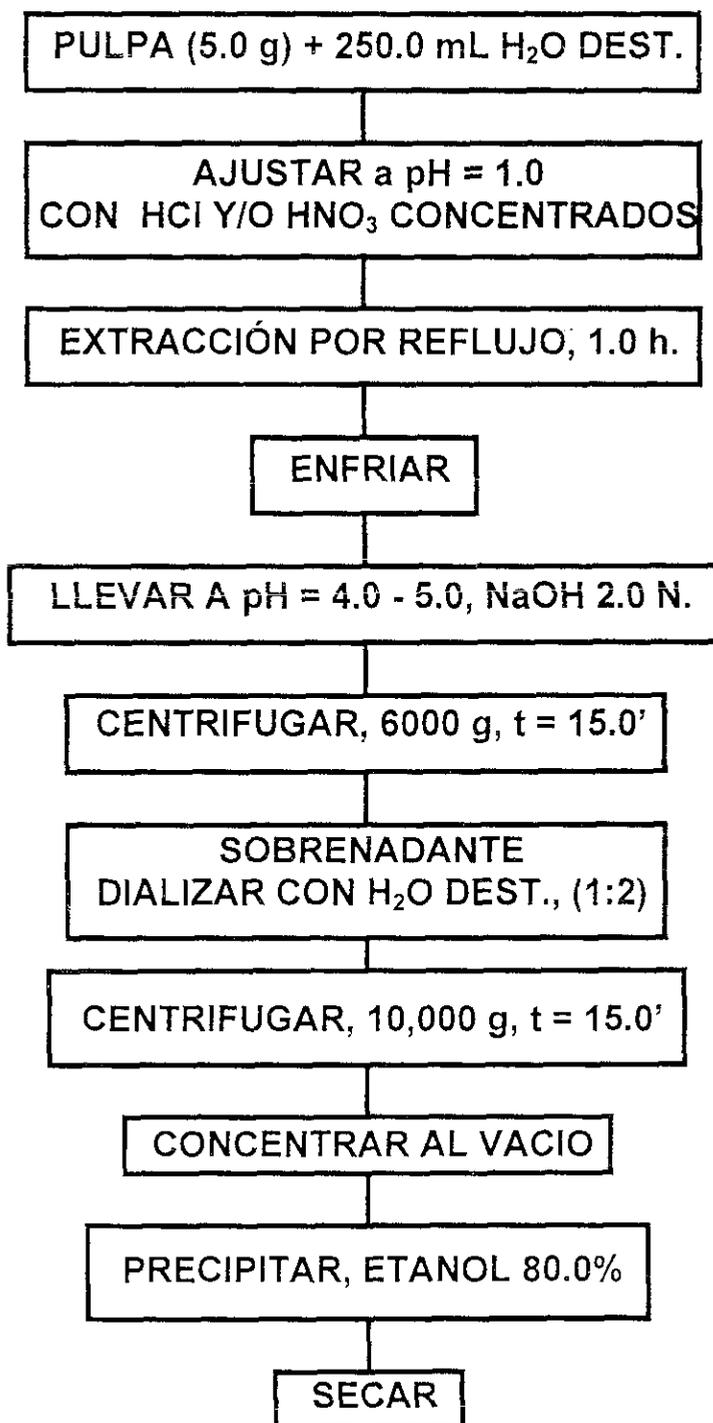
⁸⁶ Thibault J. F. *Phytochemistry*, 22 [7], 1567-1571 (1983). *Idem.*, 21 [4], 111-115 (1982). Roe B and Bruemmer J. H. *Journal of Food Science*, 46, 186-189 (1981). Batisse C., Fils-Lycaon B and Buret M. *J. of Food Science.*, 59 [2], 389-393 (1994).

⁸⁷ Kim W. J., Sosulski F and Campbell S. J. *Journal of Food Science.*, 43, 746-749 (1978). Boothby D. *Phytochemistry* 19, 1949-1953 (1980).

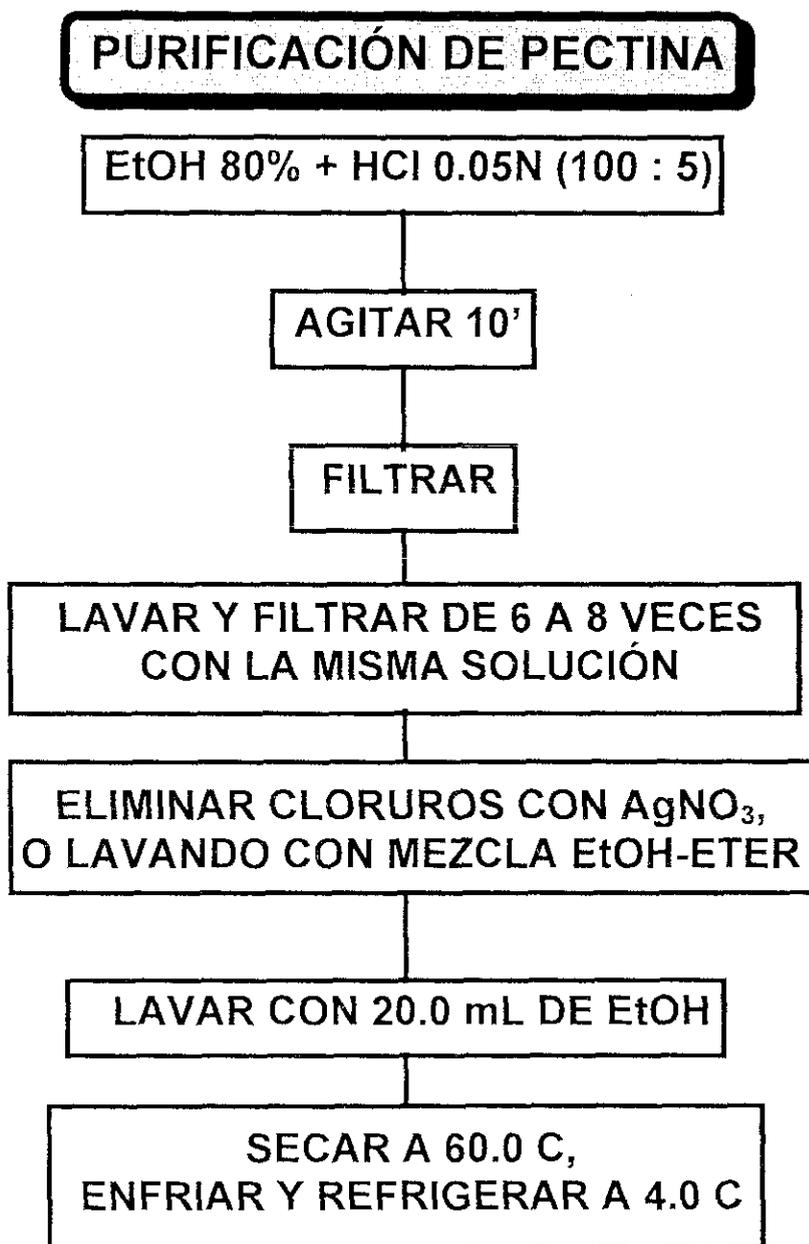
DIAGRAMA 2.5.5 EXTRACCIÓN DE PECTINA USANDO EDTA COMO AGENTE QUELANTE⁸⁸

Otras condiciones para extraer pectina empleando EDTA son las siguientes: emplean 10 volúmenes de una solución 0.1 M de Na_2EDTA , con un buffer pH de 7.0 (TRIS, 0.1 M). Agitan la solución y añaden después NaOH 0.5M durante 2.0 h a 25.0 C.

⁸⁸ O'beirne D., Van Buren J. P and Mattick L. R. J. of Food Science., 47, 173-176 (1981). Aspinall G. O., Gestetner B., Molloy J. A and Uddin M. J. Chem Soc. (C), 2554-2559 (1968).

DIAGRAMA 2.5.6 EXTRACCIÓN DE PECTINA DE LA PULPA DE BETABEL⁸⁹

⁸⁹ Michel F., Thibault J. F., Mercier C., Heitz F and Pouillaude F. J. of Food Science 50, (1985), p. 1499.

DIAGRAMA 2.5.7 MÉTODO DE PURIFICACIÓN GENERAL DE PECTINA⁹⁰

⁹⁰ Kertesz Z. i. The Pectic Substances. Interscience Publishers, INC., N.Y. (1951), p. 116.

2.6. - APLICACIONES INDUSTRIALES DE LA PECTINA.

La pectina en la industria de alimentos se emplea en la elaboración de jaleas, gelatinas, mermeladas y conservas. Las pectinas de establecimiento rápido se usan en la manufactura de conservas, para que las frutas se distribuyan uniformemente. Las pectinas de bajo metoxilo sirven para preparar frutas enlatadas como tajadas de toronja, cerezas y duraznos, porque aumentan la firmeza y el peso escurrido de la fruta⁹¹.

Las pectinas forman emulsiones con aceites comestibles por lo que se usan para la fabricación de mayonesas, helados y diversos saborizantes. También se emplean para preparar mezclas estables de leche y jugo de frutas: si se agregan pectinas de alto metoxilo a la leche, ésta no se cortará aunque se acidifique a valores de pH de 3.0, aún cuando se pasteurice la mezcla después de la acidificación⁹².

Otro desarrollo reciente muy interesante es el empleo de geles de pectina como películas protectoras para el recubrimiento de alimentos procesados⁹³, por ejemplo la preservación de tajadas frescas de toronja con un gel que contiene pectina de bajo metoxilo y CaCl₂. También, se emplea para blanquear y conservar vegetales⁹⁴.

Las pectinas se emplean en la industria farmacéutica en la elaboración de antidiarréicos, aplicados en medicina para la recuperación de la flora intestinal. Algunas suspensiones conocidas que se emplean como antidiarréicos, tienen las siguientes composiciones⁹⁵:

1. Oral (Caolín y Pectina). Categoría: antidiarreico. Composición: suspensión 8.775 g. Caolín, 195 mg de pectina/30 mL; 6.0 g de Caolín, 130 g de pectina/30 mL.
2. Caolín, pectina, sulfato de hysociamina, sulfato de atropina, hidroisomida, siopalomida y opio, suspensión oral (antidiarreico) Cantidades 6.0 g, 142.8 mg, 0.1037 mg, 0.0194 mg, 0.0005 mg y 24 mg.

Otras aplicaciones en medicina son en el tratamiento de heridas, en transfusiones para aumentar el volumen sanguíneo, en la formulación de dietas hipocalóricas, como inhibidor de virus, como secuestrante de sustancias nocivas como plomo en sangre, estriquina, etc.⁹⁶. Investigaciones recientes muestran que el pectato de calcio baja el nivel de colesterol en la sangre y reduce el riesgo de cáncer en el colon⁹⁷. La ingestión de pectina reduce las respuestas insulina - glucosa en sujetos normales y diabéticos, no disminuye la biodisponibilidad de calcio, magnesio, zinc y cobre, aunque la de hierro ha

⁹¹ Rolin C and De Vries J. Pectin. Elsevier Applied Food Science. Series Food Sciences, 1990, pp. 426 - 428.

⁹² Masmichi Koseki, et., al. Journal of Food Science, 51 [5], 1329-1332 (1986).

⁹³ Fishman, M., Pfeffer, P., Barford R and Doner L. J. Agric. Food Chem., 32, 372-378 (1984).

⁹⁴ McFeeters R. F., Fleming H. P and Thomson R. L. Journal of Food Science., 50, 201-205 (1985).

⁹⁵ Farmacopea.(Buscar bien la referencia).

⁹⁶ Bender, W. A. Consultan, Research Center, General Foods Corporation, Tarrytown, N. Y. Pectin. pp.377 - 424.

⁹⁷ Hoagland Peter D. J. Agric Food Chem. 37, [5], 1343-1347 (1989); Vidal V. C., Blanco I and Rojas H. E. J. Agric.

Food Chem. 30 [5] 832-835 (1982); Belo P and O de Lumen B, J. Agric. Food Chem. 29 [2], 370-373 (1981).

Reiser S. Food Technology, february 91-99, (1987).

decrecido no se ha demostrado en todos los casos; se investiga la relación entre el consumo de pectina y la biodisponibilidad de vitaminas, sobre todo de vitamina C.

En cosmetología se emplean también como fijadores de aceites esenciales, para prevenir la sedimentación en suspensiones por un efecto electrostático y como estabilizador en cosméticos que emplean emulsiones de Aceite en Agua⁹⁸

Otras aplicaciones importantes de las pectinas están en la industria del Acero, en donde éstas funcionan como endurecedoras del mismo⁹⁹, en la industria textil permite obtener fibras más resistentes al agua, a los ácidos, a los hidróxidos de metales alcalinotérreos; en la industria química se producen de la pectina ácido D - galacturónico por la acción de enzimas pécticas y ácido L – Ascórbico; en la industria de los explosivos se usa como vehículo; en la industria de insecticidas el pectato de nicotina es un insecticida potente y bactericidas cuando se combina con mercurio, fenol, una mezcla de ácidos salicílico y benzóico, algunos antisépticos contienen hasta 50% de pectina.

⁹⁸ Rolin C. Industrial Gums, Poliaccharids and Their Derivates. 1992, p. 288.

⁹⁹ Bender, W. A. Consultan, Research Center, General Foods Corporation, Tarrytown, N. Y. Pectin. pp.395 y 396.

3. CARACTERIZACIÓN DE LA PECTINA

El análisis de pectinas tiene como objeto saber si la sustancia extraída es una sustancia péctica. También es importante conocer los elementos que la componen, los grupos funcionales, la estructura química, aunque las pectinas más estudiadas son las de los cítricos es necesario saber si las extraídas de otras variedades botánicas poseen la misma estructura, si además, las pectinas extraídas se modifican mediante reacciones químicas características es importante saber si las reacciones propuestas se han llevado a cabo. El análisis de pectina en productos comerciales nos da idea del grado de adulteración de los mismos¹⁰⁰.

Existen métodos cualitativos¹⁰¹ y cuantitativos para efectuar el análisis de pectinas, a continuación se desarrollarán brevemente los fundamentos teóricos de algunas técnicas instrumentales empleadas durante el desarrollo del trabajo. En general lo que se analiza a las pectinas es:

| | |
|---|--|
| 1. Rendimiento. | 11. Estructura. |
| 2. Análisis proximal y/o bromatológico ¹⁰² . | 12. Tiempo de gelificación. |
| 3. Contenido de ácido galacturónico ¹⁰³ . | 13. Longitud del gel ¹⁰⁴ . |
| 4. Contenido de metoxilos ¹⁰⁵ . | 14. Temperatura de gelificación. |
| 5. Contenido de iones inorgánicos. | 15. pH de soluciones al 1.0%. |
| 6. Peso equivalente ¹⁰⁶ . | 16. Propiedades espectroscópicas. |
| 7. Composición y peso molecular ¹⁰⁷ . | 17. Prop. Reológicas de soluciones ¹⁰⁸ . |
| 8. Rotación óptica. | 18. Metanol ¹⁰⁹ . |
| 9. Grado de esterificación ¹¹⁰ . | 19. Identificación azúcares neutras ¹¹¹ . |
| 10. Grado de gelificación. | 20. Interacción con Ca, Mg, etc ¹¹² . |

En el trabajo se determinaron: rendimiento, análisis elemental y bromatológico, contenido de ácido galacturónico, contenido de metoxilos, contenido de iones inorgánicos,

¹⁰⁰ Royo Irazzo J., Niño L y Grima R. A. T. A. (Agroquímica y Tecnología de Alimentos), 17 [1], 79-85 (1977).

¹⁰¹ McCready R. M. and Reeve R. M. Agricultural and Food Chem., 3 [3], 260-262 (1955).

¹⁰² Alexander M. M and Sulebele G. A. J. of Food Science and Tech. 17, july-august, 180-182 (1980).

¹⁰³ Masamichi Koseki, et., al. Journal of Food Science, 51 [5], 1329-1332 (1986). Kintner P. K and Van Buren J. Journal of Food Science., 47, 756-759 (1982); recomiendan el empleo del m-hidroxidifenilo como un reactivo más específico para la determinación de ácidos urónicos y menos sensible a la interferencia de otros carbohidratos. Alexander M. M and Sulebele G. A. J. of Food Science and Tech. 17, july-august, 180-182 (1980). Boos R. N. Analytical Chemistry, 40-42 (1948). Mc Cready R. M. et., al. Analytical Chem., 27 [7], 975-977 (1951). Pitifer L. A., McLellan M. R & Van Buren J. P. Food Chemistry 50, 29-32 (1994).

¹⁰⁴ Johnson R. M and Breene W. M. Food Technology., febrero, 87-93, (1988).

¹⁰⁵ Idem nota 43.

¹⁰⁶ Sáenz S., Villarroel P., Parraguirre V y Pennacchiotti I. Alimentos, 15 [4], 5-8 (1990).

¹⁰⁷ Jordan R. C and Brant D. A. Biopolymers, 17, 2885-2895 (1978).

¹⁰⁸ Idem nota 43. Owens H. S. et., al. J. of the American Chemical Society., 68, 1628-1632 (1946). Gudipati Muralikrishna & Rudrapatnam N. Tharanathan. Food Chemistry, 50, 87-89 (1994).

¹⁰⁹ Klavons J. A and Bennett R. D. J. Agric. Food Chem., 34, 597-599 (1986).

¹¹⁰ Idem nota 42. McComb E. A and McCready R. M. Analytical Chem., 24 [10], 1630-1632 (1952). Sidwell A. P and Cain R. F. Food Technology., september, 438-441 (1955). Sáenz S., Villarroel P, Parraguirre V y Pennacchiotti I. Alimentos, 15 [4], 5-8 (1990).

¹¹¹ Idem nota 42.

¹¹² Torre M., Rodríguez A. R and Saura-Calixto F. J. Agric. Food Chem., 40, 1762-1766 (1992).

peso equivalente, composición y peso molecular, propiedades espectroscópicas, propiedades reológicas de soluciones, etc. Para ello se emplearon los siguientes métodos instrumentales:

3.1. - CROMATOGRAFÍA.

La cromatografía es un método analítico en el cual los componentes separados, se distribuyen entre dos fases, una fase estacionaria y una fase móvil. La cromatografía es una extensión de la distribución a contracorriente, en vez de una serie discreta de extracciones, ocurre un equilibrio continuo del soluto entre dos fases. La fase estacionaria es un líquido que recubre la superficie de partículas sólidas, que a veces, éstas mismas funcionan como fase estacionaria. El reparto o equilibrio de los solutos entre la fase móvil y la estacionaria es la base de la separación de solutos. El soluto que tiene mayor afinidad por la fase estacionaria se moverá con mayor lentitud a lo largo de la columna.

3.1.1. – CLASIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.

1. **Cromatografía de adsorción.**- primera técnica desarrollada. M. Tswett, en 1903, la aplicó a la separación de pigmentos vegetales, usó un hidrocarburo como fase móvil y CaCO_3 como estacionaria. La separación mostró bandas coloridas, de aquí su nombre.
2. **Cromatografía de reparto.**- la fase estacionaria forma una película delgada en la superficie de un soporte sólido. La fase móvil es líquida o gaseosa.
3. **Cromatografía de Intercambio iónico.**- aniones (como $-\text{SO}_3^-$) o cationes (como $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$) se unen covalentemente a la fase estacionaria sólida (resina). La cuál atrae electrostáticamente a los iones de soluto de carga opuesta. La fase móvil es un líquido.
4. **Cromatografía de exclusión molecular.**- o cromatografía de filtración o permeación en gel. Idealmente no existen interacciones por atracción entre la fase estacionaria y el soluto. La fase móvil (l o g) pasa a través de un gel poroso que excluye las moléculas grandes y las pequeñas requieren más tiempo para salir de la columna.
5. **Cromatografía por Afinidad.**- es la más reciente y selectiva. Usa interacciones altamente específicas entre un tipo de moléculas de soluto y otras moléculas que se inmovilizan covalentemente a la fase estacionaria. El soluto requerido se recupera por cambios de pH o de fuerza iónica.

3.1.2. - TERMINOLOGÍA ¹¹³.

- **Eluyente.**- fase móvil que entra a la columna.
- **Eluato.**- fase móvil que emerge por la salida de la columna.
- **Elución.**- proceso de paso de un fluido a través de una columna de cromatografía.
- **Gasto en volumen.**- es la rapidez de la fase móvil en la columna o mL/min de disolvente que recorren la columna.
- **Gasto lineal.**- es la rapidez de la fase móvil en la columna cromatográfica. En cm de longitud de columna que recorre el disolvente en un minuto.
- **Detectores.** - equipos que registran a los solutos que eluyen de una columna.
- **Cromatograma.** – gráfica que representa la respuesta del detector en función del tiempo de elución.
- **Tiempo de retención (t_r) de cada componente.** - tiempo necesario para que el componente alcance el detector.

¹¹³ Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamericano. pp. 620 - 624, México (1992).

- **Tiempo de retención ajustado (t_r').** - se define como: $t_r' = t_r - t_m$
 t_m es el tiempo para que la fase móvil recorra la longitud de la columna. Un soluto no retenido eluirá en el tiempo t_m . Cuando se emplea el detector de conductividad térmica en CG, se considera que es el tiempo necesario para que 0.1 a 10 μL de aire, inyectado con la muestra, recorra la columna.
- **Retención relativa (α):** entre dos componentes 1 y 2, $\alpha = t_{r2}' / t_{r1}'$, $t_{r2}' > t_{r1}' \therefore \alpha > 1$.
- **Factor de retención** para cada pico en el cromatograma, relación de retención, relación de reparto o factor de capacidad (k). - $k = t_r - t_m / t_m$
 k = tiempo que pasa el soluto en la fase estacionaria / tiempo que pasa el soluto en la fase móvil.
 $k = C_s V_s / C_m V_m$; V_m - es el volumen de la fase móvil y V_s - es el de la fase estacionaria, el cociente C_s / C_m es el coeficiente de Reparto, $K \therefore k = K V_s / V_m$
 A mayor tiempo que un componente se retiene en la columna, mayor es el factor de retención. k grandes favorecen una buena separación, pero también incrementar el tiempo de elución y el ancho de banda. El k y la N de una columna medidos periódicamente con un patrón nos muestran el funcionamiento de ésta.
- **Cociente de retención R .** - R = tiempo en que el solvente recorre la columna / tiempo en el que el soluto recorre la columna. $R = t_m / t_r$
- **Volumen de Retención (V_r).** - es el volumen de fase móvil que se requiere para que un soluto dado eluya de la columna cromatográfica: $V_r = t_r F$, F es el gasto en volumen de la fase móvil. El volumen de retención de un soluto particular es constante en un amplio intervalo de gastos. $V_r = K V_s + V_m$.

3.1.3. - FUNDAMENTOS TEÓRICOS.

Existen 2 teorías que explican el movimiento de soluto en una columna cromatográfica: la Teoría de los platos en cromatografía¹¹⁴ y la Teoría Cinética de la Cromatografía¹¹⁵.

La primera propone que ocurren una cantidad muy grande de equilibrios de distribución a contracorriente entre las fases móvil y estacionaria a medida que el soluto avanza por la columna. La cromatografía es un proceso continuo, pero es posible imaginar que la columna se divide en N segmentos, o platos teóricos (N), y en cada uno se establece un equilibrio. Si la longitud total de la columna es L , la altura equivalente de plato teórico (AEPT o HETP) es: $\text{AEPT} = L / N$; N se calcula como: $N = t_r^2 / \sigma^2 = 16 t_r^2 / w^2$,

t_r es el tiempo de retención del pico, σ es su desviación estándar y w es el ancho de banda en unidades de tiempo medido en la base del pico. O bien, si el ancho de banda se mide a una altura igual a la mitad de la altura del pico, entonces: $N = 5.55 t_r^2 / w^2_{1/2}$.

Todas las cantidades deben medirse en las mismas unidades: minutos o cm de papel.

La Teoría cinética de la cromatografía toma en cuenta la velocidad finita a la cual el soluto puede equilibrarse entre las fases móvil y estacionaria. Es decir, el equilibrio no es infinitamente rápido como supone la teoría de platos, y la forma resultante de las bandas depende de la velocidad de elución. Dicha forma también depende de la difusión del soluto a lo largo de la columna y de la existencia de diferentes caminos que las diversas moléculas de soluto pueden seguir cuando se mueven entre partículas de la fase estacionaria. Todos estos efectos dependen de la velocidad, v , con la que la fase móvil

¹¹⁴ Idem. pp. 624 - 626.

¹¹⁵ Idem. pp. 626 - 628.

atraviesa la columna. Los diversos mecanismos, por los que la banda se ensancha, están expresados en la Ecuación de van Deemter para la altura de plato teórico: $AEPT = A + B/v + C_v v$

A, B, y C son constantes características de un sistema dado de columna y disolvente. Existe una velocidad óptima para la operación de cualquier columna, a la cual la altura de plato alcanza su valor mínimo. Para una fase estacionaria dada, a menor tamaño de partícula mayor eficiencia y el gasto óptimo aumenta. El tamaño de partícula más adecuado es, aproximadamente, de 10 μm .

3.1.4. - RESOLUCIÓN¹¹⁶.

La resolución de dos picos se define como: $\text{Resolución} = \Delta t_r / w_{pr} = \Delta V_r / w_{pr}$,

Δt_r y ΔV_r son la separación entre picos (en unidades de tiempo o de volumen) y w_{pr} es el ancho promedio de ambos picos en las unidades correspondientes, medido en la base. La resolución también se determina como: $\text{Resolución} = \sqrt{N/4} (\alpha - 1/\alpha) (k_2/1 + k_{pr})$

N es el número de platos teóricos en la columna, α es la retención relativa de los dos picos, k_2 es el factor de retención para el segundo componente (el que más se retiene) y k_{pr} es el factor de retención promedio para ambos componentes.

Si el número de platos teóricos para los dos picos no es el mismo, se sustituye N por $\sqrt{N_1 N_2}$ y k_2 por k_{pr} . La separación de componentes aumenta en forma proporcional a N , pero el ensanchamiento de banda es proporcional a \sqrt{N} . En general la resolución es proporcional a \sqrt{N} o a \sqrt{L} . Hay un límite práctico hasta el cual es posible incrementar el factor de retención, porque si los tiempos de retención aumentan demasiado los picos se hacen muy anchos.

3.1.5. - COLUMNAS¹¹⁷.

Existen gran variedad de columnas para cromatografía entre las que se encuentran:

1. Columnas Empacadas.- se llenan con la fase estacionaria.
2. Columnas Tubulares abiertas.- consisten en recubrir con la fase estacionaria la pared interna de la columna capilar angosta. Tienen mucho mayor resolución, menores tiempos de análisis y mayor sensibilidad a pequeñas cantidades de analito.

En la tabla 3.1.5.1 se comparan características reales de ambas columnas.

TABLA 3.1.5.1 COMPARACIÓN DE COLUMNAS

| PROPIEDAD | EMPACADA | TUBULAR ABIERTA |
|--|-----------|-----------------|
| Longitud de la columna, L | 2.4 m | 100.0 m |
| Velocidad lineal del gas | 8.0 cm/s | 16.0 cm/s |
| AEPT para oleato de metilo | 0.73 mm | 0.34 mm |
| Factor de retención, k, para oleato de metilo. | 58.6 | 2.7 |
| Platos teóricos, N | 3290 | 294000 |
| Resolución de estearato y oleato de metilo. | 1.5 | 10.6 |
| Tiempo de retención del oleato de metilo. | 29.8 min. | 38.5 min. |

Emplicando la misma fase estacionaria para separar un par de solutos por cromatografía de gases.

¹¹⁶ Idem. pp. 628 y 629.

¹¹⁷ Idem. pp. 629 y 630.

3.1.6. - FORMAS DE LAS BANDAS¹¹⁸.

El soluto no puede aplicarse en la columna en una zona infinitesimalmente estrecha, así que la banda tiene ancho finito antes de empezar a extenderse el soluto dentro de la columna. Después de la elución, puede ocurrir un ensanchamiento extra en la salida de una columna mal diseñada o en el detector que se utiliza para medir el soluto que sale. En salidas de columnas y detectores bien diseñados se logra mantener un flujo laminar. El fluido en el centro de la cámara se mueve más rápido que el de los bordes, la banda se ensancha. El ensanchamiento es mucho mayor en una salida o en un detector, donde cada gota nueva que penetra en la cámara se mezcla totalmente con el contenido de ésta como en los grandes espacios muertos de algunas columnas mal diseñadas y/o construidas. Para minimizar el ensanchamiento de las bandas fuera de la columna deben minimizarse todos los espacios muertos y las dimensiones de los tubos. La muestra debe aplicarse en una zona estrecha y debe procurarse que penetre en la columna antes de mezclarse con el eluyente.

Una banda de forma gaussiana se produce cuando el coeficiente de reparto, K es constante e independiente de la cantidad de soluto en la columna. En columnas reales, la relación C_s/C_m cambia un poco conforme aumenta la cantidad total de soluto, y las bandas resultantes se vuelven asimétricas. Las gráficas de C_s en función de C_m a una cierta temperatura se llama isoterma. En la figura siguiente se presentan tres isotermas comunes y sus formas de bandas resultantes:

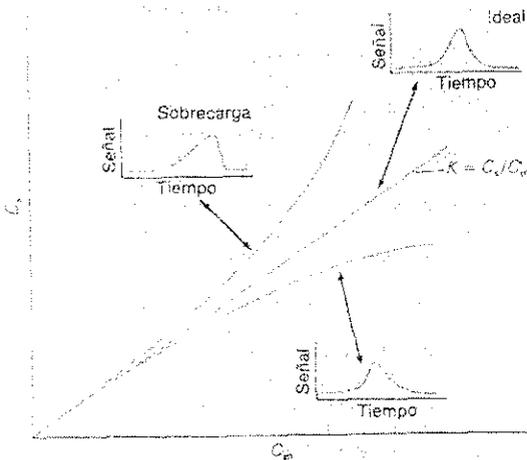


Figura 22-17
Isotermas comunes y sus formas de banda cromatográfica resultantes.

La isoterma central es ideal, y se obtiene un pico simétrico. La superior es típica de una columna sobrecargada. La isoterma inferior se observa cuando cantidades pequeñas de soluto se retienen más fuertemente. Es decir se tiene la situación opuesta a la sobresaturación. Una de las causas de la aparición de colas es la presencia de sitios en los cuales la fase estacionaria retiene fuertemente al soluto. Cuando estos sitios se saturan con el soluto, el coeficiente de reparto disminuye porque no hay sitios de retención fuerte disponibles para detener nuevo soluto.

¹¹⁸ Idem. pp. 630 - 632.

3.2. - CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA Y PAPEL¹¹⁹.

Técnica de separación empleada por Stahl en 1956, tiene alto poder de resolución. Su equilibrio de reparto es de adsorción. Las ventajas sobre el papel son la rapidez de elución y su eficiencia especialmente para compuestos no polares. Se emplean detectores corrosivos sin dañar al sustrato ni al adsorbente. Como adsorbentes se emplean gel de sílice, alúmina o celulosa entre otros, con un tamaño de partícula entre 5 y 25 micrones. Actualmente la cromatografía en capa fina se lleva a cabo en cromatofolios de aluminio los cuales ya contienen depositada la fase estacionaria. Esta técnica se usa además, para encontrar las mejores condiciones de operación, para aplicarlas en otras técnicas cromatográficas¹²⁰.

Para identificar y cuantificar monosacáridos se emplea la cromatografía en papel, con procedimientos monodimensional y bidimensionales. Generalmente se usa el procedimiento descendiente monodimensional. El papel utilizado es el Whatman # 1, el tiempo de elución varía de 18 – 24 h a 30 – 36 h dejando escurrir el disolvente. Los solventes y las concentraciones (v/v) más usados son¹²¹:

- n-butanol – piridina – agua (9-5-4),
- isopropanol – piridina – agua (7-2-2),
- n-butanol – ácido acético – agua (2-1-1),
- isopropanol – piridina- ácido acético – agua (8-8-1-4),
- fenol saturado en agua,
- n-butanol – benceno – piridina – agua (5-1-3-3)

Los reveladores más empleados son: carbazol, antrona, resorcinol (fructuosa), orcinol (diferencia entre pentosas y hexosas), yodo (da la presencia de almidón, agar o xilosanas), ácido múico (identifica galactosa y ácido galacturónico), solución 0.1 N de nitrato de plata en hidróxido de amonio 5.0 N, mezcla de acetona e hidróxido de sodio, solución al 1.0% de permanganato de potasio en solución de carbonato de sodio al 2.0 %, mezcla de anilina y ácido ftálico (0.93 g y 1.66 g en 100 mL de butanol saturado con agua), mezcla de p-anisidina y ácido fosfórico (3.0 g y 2.0 mL de solución al 85.0% en 50 mL de etanol). Para obtener el producto colorido es necesario calentar el cromatograma, previamente rociado con el revelador, para el revelador de anilina se calienta entre 100.0 y 105.0 grados durante 5.0 min. En el caso de anisidina se calienta entre 95.0 y 100.0 grados también durante 5.0 min. Estos reactivos permiten diferenciar aldopentosas, aldohexosas, metilpentosas, ácidos urónicos y metilosas.

Para oligosacáridos el tiempo de elución varía entre 49 y 96 h, se emplea un procedimiento descendente y se recomienda usar eluyentes con un contenido mayor de agua para aumentar la movilidad. Los eluyentes más empleados son: isopropanol – piridina - agua (7-7-6), isopropanol - n-butanol - agua (7-1-2), acetato de etilo - n-butanol-

¹¹⁹ Edwards D. I. Cromatografía. Principios y técnicas. Ed. El Manual Moderno. pp. 40 - 48. México (1975).

¹²⁰ Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamericano. p. 656, México (1992).

¹²¹ Maldonado García Rolando (Editor), Los Productos de las Plantas. Una visión integral. Vol. I. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo Coahuila. México (1985).

ácido acético - agua (6-8-5-8). Los reveladores empleados son los mismos que para monosacáridos.

3.3. - CROMATOGRAFÍA DE GASES¹²²

La fase móvil es un gas, que transporta un soluto gaseoso o el vapor de un líquido volátil. Se usa para analizar compuestos que posean una presión de vapor de 1 a 1000 mmHg en las condiciones de operación. Las muestras que no pueden ser analizadas directamente, se determinan formando derivados con presiones de vapor adecuadas. La fase estacionaria suele ser un líquido no volátil que recubre el interior de la columna (cromatografía de reparto gas - líquido) o un soporte sólido de grano fino sobre los que el soluto puede adsorberse (cromatografía de adsorción gas - sólido).

Las muestras líquidas se inyectan a través de un septo de goma en un puerto de inyección caliente, recubierto de vidrio o metal, donde se vaporiza la muestra. Las muestras gaseosas se inyectan con una jeringa de cierre hermético o a través de una válvula de muestreo de gas. La inyección de la muestra puede hacerse de diversas formas: a) la inyección dividida; b) la inyección sin división y c) la inyección sobre la columna. La muestra inyectada se arrastra rápidamente hacia la columna por un gas portador: He, N₂ o H₂, que actúa como fase móvil. Después de pasar por la columna que contiene la fase estacionaria, los solutos separados fluyen por un detector, cuya respuesta se visualiza en un registrador.

La temperatura de la columna debe ser elevada para que los solutos tengan suficiente presión de vapor y sean eluidos en un tiempo razonable. Ésta no debe ser mayor que el punto de ebullición de los solutos. El detector se mantiene a mayor temperatura que la columna, para que los solutos estén en fase gaseosa. Los solutos que salen del cromatógrafo pueden colectarse para su identificación o enviarse directamente a un espectrofotómetro de infrarrojo o de masas para su análisis.

3.3.1. - COLUMNAS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES.

1. **Columnas empacadas de acero inoxidable o vidrio.**- tienen un diámetro de 3 a 6 mm y una longitud de 1.0 a 5.0 m. La columna se llena con un soporte sólido de grano fino e inerte recubierto de un líquido no volátil como fase estacionaria, el sólido mismo puede ser la fase estacionaria. El soporte es un material resistente, de partículas pequeñas uniformes, con gran área superficial, generalmente de diatomita. Como el soporte no es del todo inerte se recurre a técnicas para cubrir sitios activos ya sea con un compuesto polar, como el ácido acético que permanece unido indefinidamente. O bien con una silanización que consiste en unir covalentemente grupos trimetilsilil a los grupos hidroxilo del silanol. La diatomita tratada así presenta menos problemas de colas que el material no tratado. Las columnas de vidrio que se usan en CG y CL también se silanizan para minimizar la interacción del soluto con sitios activos presentes en las paredes de vidrio. Para solutos muy reactivos, se usa el teflón como soporte. La uniformidad del tamaño de partículas reduce el término de trayectorias múltiples (A) en la ecuación de van Deemter, lo que reduce el tiempo requerido para el equilibrio de los solutos, y mejora la eficiencia de la columna. Sin embargo, a menor tamaño de partícula, se requiere más presión para que la fase móvil pase a través de la columna. La fase estacionaria se elige según los solutos que se deseen separar.

¹²² ídem. pp. 637 - 653 y notas de la empresa Perkin Elmer.

2. **Columnas tubulares abiertas.**- tienen mayor resolución, menor tiempo de análisis y mayor sensibilidad que las empacadas, pero se maneja una cantidad de muestra mucho menor. Su longitud varía de 15 a 100 m, su diámetro interno de 100 a 700 μm , un espesor de la fase estacionaria de 0.1 a 5.0 μm , se fabrican de sílice (SiO_2) fundida con menos de 1.0 ppm de impurezas metálicas que inducen la formación de sitios activos. También se fabrican de vidrio, pero éste contiene más sitios activos y por lo tanto menor resolución. La sílice fundida tiene una concentración menor de grupos silanol ($\text{Si} - \text{O} - \text{H}$) superficiales que unidos a los solutos provocan formación de colas en las señales, tiene mayor resistencia mecánica; su exterior se recubre con poliimida (plástico que soporta hasta 350°) o aluminio para incrementar esa resistencia y prevenir el debilitamiento producido por el vapor de agua atmosférico y la exposición a oxígeno a temperaturas altas, lo que ocasionaría la formación de colas. Existen varios diseños: a) las de **configuración de pared recubierta**, usan una película delgada uniforme de fase líquida estacionaria en la pared interna de la columna. Adecuadas para análisis de trazas. b) las de **diseño con soporte recubierto**, usan un soporte sólido, sílice o alúmina unido a la pared interna de la columna para incrementar el área superficial, que se recubre de una fase líquida estacionaria; tienen mayor volumen de fase estacionaria que las de pared recubierta, lo que permite analizar muestras más grandes y mejora la resolución de solutos escasamente retenidos al principio del cromatograma. Además hay menos flujo en el detector y menor nivel de ruido. El rendimiento de estas columnas es intermedio entre las de pared recubierta y las empacadas. c) **diseño de capa porosa**, las fases estacionarias activas son partículas sólidas porosas unidas a la columna.

3.3.2. - PROGRAMACIÓN DE LA TEMPERATURA.

Al aumentar la temperatura de una columna se reduce el tiempo de retención y la resolución. Cuando se separa una mezcla de compuestos con amplio intervalo de puntos de ebullición o polaridades, es muy útil modificar la temperatura de la columna durante la separación. Para un calentamiento rápido se usan columnas de diámetro pequeño. La relación entre el tiempo de retención y la temperatura es:

$$\text{Log } t_r = a/T + b; \text{ T se da en K, a y b son constantes.}$$

3.3.3. - GASES PORTADORES.

La selección de la fase móvil influye en el funcionamiento de la columna y el detector. Los 3 gases portadores más comunes son H_2 , He y N_2 , producen una altura de plato óptima de 0.3 mm, pero gastos significativamente distintos. El N_2 requiere un gasto bajo para el funcionamiento óptimo, mientras que He e H_2 pueden usarse a un gasto mayor. El H_2 puede mostrar una resolución similar a la de los otros gases, pero a un gasto mucho mayor. H_2 y He dan una buena resolución a gastos elevados porque los gases del soluto se difunden más rápido a través de ellos que del N_2 , favoreciendo un equilibrio rápido entre las fases móvil y estacionaria, lo cual reduce la altura de plato.

3.3.4. - DETECTORES.

Los detectores que más se emplean en cromatografía de gases son:

1. **Conductividad Térmica.**- responde linealmente en 4 veces la concentración del soluto. H_2 y He producen la mayor sensibilidad y para aumentarla más se eleva la

corriente del filamento, sin exceder el máximo; se reduce el gasto y la temperatura en el cuerpo del detector, los solutos deben permanecer en fase gaseosa.

2. **Ionización de Flama.**- El N_2 mejora la sensibilidad, pero pueden usarse H_2 y He. La señal es proporcional al número de C susceptibles. La sensibilidad es 100 veces mayor que la del de conductividad térmica. La respuesta es lineal en 7 veces la concentración del soluto. La señal de fondo (de referencia) es muy estable.
3. **Captura de electrones.**- Para moléculas con halógenos, - C = O conjugado, - C \equiv N, - NO_2 .
4. **Fotómetro de Flama.**- Útil para el análisis de compuestos que contiene P o S.
5. **Álcalis de Flama.**- Ionización de flama modificado selectivo para P y N_2 . Se usa en el análisis de fármacos.
6. **Los espectrómetros de masas y los espectrofotómetros de FTIR.**- se utilizan ampliamente en CG, al igual que los detectores de emisión atómica por plasma ICP.

3.4. - CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN¹²³.

Esta técnica se utiliza en experimentos preparativos de química y de bioquímica que necesitan aislar cantidades grandes (mg o g) de material. La cromatografía de líquidos de alta resolución CLAR o HPLC por sus siglas en inglés. Tanto en columnas alimentadas por gravedad como por bombeo, para fines analíticos o preparativos, pueden realizarse diversos tipos de cromatografía de intercambio iónico y de exclusión molecular.

3.4.1. - CONDICIONES DE TRABAJO y SISTEMAS DE INYECCIÓN DE LA MUESTRA.

Para conseguir un flujo aceptable con rellenos de partículas entre 3 y 10 μm , se necesitan presiones de bombeo altas, lo que hace que los equipos sean más complejos y caros.

La inyección con jeringa a través de un septo elastomérico no es muy reproducible y sólo se utiliza en cromatografía líquida con presiones inferiores a 1.500 psi, la inyección por flujo se emplea, con mejores resultados: se interrumpe el flujo del solvente por un momento, se retira un dispositivo de la parte superior de la columna y se inyecta la muestra directamente en el relleno mediante una jeringa. Otro procedimiento más difundido es el uso de "bucles" de muestreo intercambiables que permiten elegir volúmenes de muestra desde 5 a 500 μl .

3.4.2. - DEPÓSITOS DE FASE MÓVIL Y SISTEMAS DE TRATAMIENTO DEL DISOLVENTE.

Un HPLC moderno, está equipado con uno o más depósitos de vidrio o acero inoxidable, que contienen 500 mL o más de disolvente. Incluyen dispositivos para eliminar los gases disueltos o partículas de polvo que forman burbujas en la columna y con ello originan ensanchamientos de las bandas, además tanto las burbujas como el polvo interfieren en el funcionamiento de los detectores. También cuentan con válvulas simétricas que introducen los líquidos desde dos o más depósitos a velocidades que varían continuamente.

¹²³ Idem. pp. 657 - 677.

La elución en la que se emplea un disolvente de composición constante se llama isocrática. Cuando se usan sistemas de dos o más disolventes que difieren en gran medida en su polaridad se denomina elución en gradiente. La porción de los dos disolventes se varía de forma programada, unas veces en forma continua y otras en una serie de pasos. Ésta incrementa la eficacia de la separación, como la programación de temperaturas en CG.

3.4.3. - COLUMNAS PARA HPLC y SISTEMAS DE BOMBEO.

Las columnas para cromatografía de líquidos son de tubo de acero inoxidable o de vidrio de paredes gruesas cuando se aplican presiones bajas (600 psi). Tienen longitudes entre 10 y 30 cm y diámetros internos de 4 a 10 mm. Los rellenos típicos son partículas de sílice con un diámetros muy uniformes que se recubren a veces con una fina película orgánica unida física o químicamente a la superficie, entre 5 y 10 μm y contienen de 40,000 a 60,000 platos/m. Se usan también alúmina, polímeros porosos y resinas de intercambio iónico. Actualmente se trabaja con microcolumnas de alta resolución de 3 a 7,5 cm de longitud y 14,6 mm de diámetro interno, con partículas de relleno de 3 a 5 μm y con más de 100.000 platos/m. Sus ventajas son la rapidez y el consumo mínimo de disolvente.

Las condiciones que cumplen las bombas de HPLC son estrictas e incluyen: 1) proporcionar presiones superiores a 6.00 psi (lb/in^2), no constituyen riesgo de explosión porque los líquidos no son muy compresibles. 2) salidas libres de impulsos, 3) velocidades de flujo de 0,1 a 10.0 mL/min., 4) reproducibilidades de flujo de 0,5 % o mejores, 5) resistencia a la corrosión.

3.4.4. - DETECTORES.

En HPLC no existe un sistema de detección universal de gran sensibilidad, depende de la naturaleza de la muestra. Los detectores más empleados son: el espectrofotómetro ultravioleta – visible, trabaja con líneas de absorción de 254 y 280 nm de una lámpara de mercurio, otras lámparas usadas son las de filamento de deuterio o tungsteno con filtros de interferencia. Detector de índice de refracción, no es selectivo y responde a la presencia de todos los analitos,¹²⁴. Detector de fluorescencia.

3.5. - ESPECTROFOTOMETRÍA¹²⁵.

Se refiere al empleo de la luz para medir las concentraciones de sustancias químicas. Las propiedades de la luz que pueden medirse cuando ésta se considera como onda, son la longitud de onda (λ) y la frecuencia (ν). La unidad de frecuencia es s^{-1} . La relación entre la ν y λ está dada por la ecuación: $\lambda\nu = c$; c es la velocidad de la luz.

Desde el punto de vista energético, la luz está constituida por partículas llamadas fotones. Cada fotón tiene una energía E , la cual se calcula por la relación: $E = h\nu$; h es la constante de Planck. Combinando las dos ecuaciones podemos escribir: $E = h c/\lambda = h c\hat{\nu}$; $\hat{\nu} = 1/\lambda$ y se denomina número de onda. La unidad SI para el número de onda es el m^{-1} .

¹²⁴ Skoog D. A y West D. M. Química Analítica. 4ª Ed. pp.546 - 561, México (1989).

¹²⁵ Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamericano. pp. 495 - 508, México (1992).

3.5.1. - ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA - VISIBLE¹²⁶.

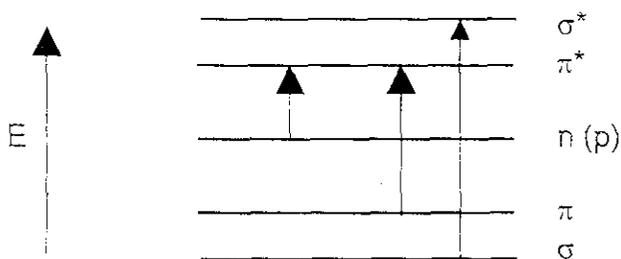
Las regiones ultravioleta – visible del espectro electromagnético de la luz son:

- Ultravioleta cercano o cuarzo ultravioleta, la cual se extiende desde 200 a 380 nm
- Ultravioleta vacío, la cual se extiende de 185 a 200 nm.
- Visible de 380 a 800 nm.

La absorción molecular en estas regiones, depende de la estructura electrónica de la molécula. Existen varias ventajas respecto a la selectividad de la absorción en la zona:

- En moléculas de gran complejidad pueden reconocerse grupos característicos.
- Una gran cantidad de moléculas complejas, es transparente en la región. Se puede correlacionar los espectros con la estructura.
- El espectro uv - visible es una gráfica de la intensidad de absorción (A o T) contra λ (o frecuencia) de absorción. O bien, de ϵ contra λ o $\log \epsilon$ contra λ (expresada en nanómetros o en angstroms).
- El uso de la ϵ como unidad de intensidad de absorción tiene la ventaja de que todos los valores se refieren al mismo número de especie absorbida.

La energía total en una molécula es la suma de sus energías electrónica, vibracional y rotacional. La magnitud de esas energías decrece en el siguiente orden: $E_{elec.}$, $E_{vib.}$ y $E_{rot.}$. La energía absorbida en la región del uv – visible producen cambios en la energía electrónica de la molécula resultando la transición de los electrones de valencia que consiste en la excitación de éstos que ocupan un orbital molecular de enlace al orbital próximo de más alta energía. Las transiciones se indican: $\pi \rightarrow \pi^*$, si π es el orbital de enlace; $n \rightarrow \pi^*$, si el orbital es n , o $\sigma \rightarrow \sigma^*$, si σ es el orbital de enlace. Las características de absorción de las moléculas orgánicas, como las pectinas, en la región UV - VISIBLE dependen de las transiciones electrónicas que puedan ocurrir y el efecto estérico en las transiciones. En la siguiente figura se muestran las diferentes transiciones:



No se muestra una escala numérica de energía, sin embargo, se observa que la transición $n \rightarrow \pi^*$ requiere menor energía que las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

Las características principales de una banda de absorción son la posición y la intensidad. La posición corresponde a la λ de la radiación que se requiere para que se lleve a cabo la transición electrónica. La intensidad de absorción depende de 2 factores:

¹²⁶ Silverstein, R. M., Bassler, G. C and Morrill, T. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 15ª Ed. John Wiley and Sons, INC. pp. 289 - 295, USA (1991).

1º la probabilidad de interacción entre la energía de radiación y el sistema electrónico y 2º la diferencia entre el estado basal y el estado excitado.

La probabilidad de transición es proporcional al cuadrado del momento de la transición o momento dipolo de la transición¹²⁷; éste es proporcional al cambio en la distribución de carga que ocurre durante la excitación. La absorción es intensa cuando la transición ocurre con un gran cambio en el momento de dipolo. La absorción con un $\epsilon_{m\acute{a}x}$ de valores mayores a 10^4 es una absorción de alta intensidad, la absorción de baja intensidad corresponde a valores de $\epsilon_{m\acute{a}x}$ menores que 10^3 . Estas son transiciones prohibidas. La intensidad de una banda de absorción en el espectro UV se expresa como la absorptividad en la máxima absorción.

Términos empleados en el análisis de los espectros electrónicos:

- **Cromóforo.**- grupo covalentemente insaturado responsable de la absorción electrónica, v.g., $>C=C<$, $>C=O$ y NO_2 .
- **Auxocromo.**- grupo saturado con electrones libres, los cuales, cuando están unidos a un grupo cromóforo, alteran la λ y la intensidad de la absorción, v.g., $-OH$, NH_2 - y $:Cl^{-1}$.
- **Corrimiento Batocrómico.**- La señal de absorción se desplaza a λ mayores debido al efecto del sustituyente o al disolvente (corrimiento hacia el rojo).
- **Corrimiento Hipsocrómico.**- La señal de absorción se desplaza a λ menores debido al efecto del sustituyente o del disolvente (corrimiento hacia el azul).
- **Efecto Hipercrómico.**- Provoca el incremento en la intensidad de absorción.
- **Efecto Hipocrómico.**- Produce el decremento en la intensidad de absorción.

Las transiciones, $n \rightarrow \pi^*$ (bandas R) de grupos como el carbonilo o nitro, son prohibidas. Las bandas tienen una $\epsilon_{m\acute{a}x}$ menor de 100. Presentan un corrimiento hipsocrómico al aumentar la polaridad del disolvente. Permanecen en el espectro cuando se modifica la estructura molecular lo que introduce bandas adicionales de λ corta. Cuando aparecen bandas adicionales, esta transición se corre a una λ mayor, pero pueden ser solapadas por bandas más intensas.

Las bandas de las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ (bandas K) corresponden a moléculas que tienen un sistema π conjugado como butadieno u óxido de mesitilo; y a moléculas aromáticas que poseen un cromóforo como sustituyente. Éstas tienen valores de $\epsilon_{m\acute{a}x} > 10,000$. Las bandas K de di o polienos conjugados no se afectan con el cambio de la polaridad del disolvente. Las enonas si sufren un corrimiento batocrómico, acompañado por un incremento de la intensidad.

Las bandas B, bandas bencenoides, de moléculas aromáticas o heteroaromáticas, aparecen en una región entre 230 y 270 nm. Cuando un grupo cromóforo está unido a un anillo aromático las bandas B se observan a λ mayores que las bandas K.

Las bandas E (bandas etilénicas) de estructuras aromáticas. E_1 y E_2 del benceno se observan cerca de 180 y 200 nm. Si el anillo tiene un sustituyente auxocromo, la banda E_2 se corre a la región del UV cercano, en muchos casos aparece en λ menores de 210

¹²⁷ Ibidem.

nm. En la sustitución auxocrómica, el heteroátomo con un solo par de electrones compartidos con los electrones π del sistema aromático, facilitan la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ y hay un corrimiento al rojo de las bandas E. Sus $\epsilon_{\text{máx}}$ varían entre 2000 y 14000.

Los espectros uv - visible se determinan en fase vapor o en solución. Los solventes transparentes en todo el rango de UV son agua y acetonitrilo. Las celdas empleadas son de cuarzo con un espesor para muestras en fase vapor de 1.0 a 100 mm y de 1.0 a 10.0 cm ($V = 3.0$ mL) para soluciones.

Cualquier sustancia que absorbe luz visible se ve colorida cuando refleja la luz blanca o cuando ésta se transmite por ella. La sustancia absorbe ciertas λ de la luz blanca, y el ojo humano detecta las longitudes de onda reflejadas.

3.5.2. - ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO¹²⁸.

Estudia las interacciones de los sistemas moleculares con la radiación de la región del infrarrojo (IR), en un intervalo de $\hat{\nu}$ desde 14,290 a 200 cm^{-1} . Este intervalo se clasifica en: IR cercano (14,290 a 4000 cm^{-1}), IR medio (4000 a 700 cm^{-1}) e IR lejano (700 a 200 cm^{-1}).

El espectro IR es característico de toda la molécula, pero ciertos grupos de átomos dan origen a bandas características a ciertas frecuencias, que permiten obtener información acerca de la composición de la molécula. Cuando las moléculas absorben radiación en el rango de 10,000 a 100 cm^{-1} la convierten en energía de vibración molecular y el espectro vibracional aparece como bandas porque un cambio de energía vibracional está acompañada por varios cambios de energía rotacional. La ν o λ de absorción depende de las masas relativas de los átomos, de las constantes de fuerza de los enlaces y de la geometría de los átomos. Existen dos tipos de vibración molecular: estiramiento y pliegue o flexión. Solamente las vibraciones que dan como resultado un cambio en el momento dipolar de la molécula se observan en el IR.

La posición de las bandas en los espectros IR se indica como $\hat{\nu}$ número de onda cuya unidad es cm^{-1} . Los espectros lineales en $\hat{\nu}$ y en λ tienen diferente apariencia. La intensidad de las bandas se expresa en T o A, y se indican con las literales s para bandas intensas, m para medias y w para débiles.

Una molécula tiene tantos grados de libertad como el total de grados de libertad de sus átomos. Cada átomo tiene 3 grados de libertad correspondientes a las coordenadas Cartesianas (x, y, z) necesarias para describir su posición relativa. Una molécula de n átomos tiene 3n grados de libertad. Para moléculas no lineales, 3 grados libertad describen la rotación y 3 describen la translación; quedando 3n - 6 grados de libertad vibracional o vibraciones fundamentales. Para moléculas lineales se tiene 3n - 5 grados de libertad vibracional, ya que solo 2 grados de libertad describen la rotación.

¹²⁸ Silverstein, R. M., Bassler, G. C and Morrill, T. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 15ª Ed. John Wiley and Sons, INC. pp. 91 - 102, USA (1991).

El número teórico de vibraciones fundamentales, no aparece siempre en el espectro porque la combinación de tonos y sobretonos incrementan el número de bandas, existen otros fenómenos que reducen su número, como cuando:

1. Las frecuencias fundamentales producidas caen fuera de la región $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.
2. Las bandas fundamentales producidas son débiles.
3. Las vibraciones fundamentales se fusionan cuando están muy cercanas.
4. El fenómeno de degeneración de las bandas ocurre debido a que existen moléculas altamente simétricas que presentan varias absorciones a la misma frecuencia.
5. El momento dipolo molecular no cambia.

Existen varios instrumentos en los que se pueden determinar los espectros IR, entre los cuales están el Espectrofotómetro IR de doble haz el cuál consiste de 5 secciones principales: fuente de radiación, área de muestra, fotómetro, monocromador y detector y el Espectrofotómetro de IR de Transformada de Fourier.

3.5.2.1. - ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO DE TRANSFORMADA DE FOURIER¹²⁹.

Para medir de una sola vez un espectro completo se emplea un sistema de fotodiodos (termopares) o un dispositivo acoplado a la carga. El espectro se dispersa en las λ que lo componen, y cada banda pequeña de λ se dirige hacia un detector. Para la región del infrarrojo, el método más importante y ampliamente usado para obtener de inmediato el espectro completo es la espectroscopía de Transformada de Fourier (TF).

El análisis de Fourier es un procedimiento por el cual una curva dada se descompone en una suma de términos seno y coseno, llamada serie de Fourier. El análisis de Fourier es una forma de descomponer una curva en las λ que la constituyen, ha sido muy desarrollada y tiene numerosas ventajas, entre las cuales tenemos:

- No emplea monocromador.
- El rango íntegro de radiación pasa a través de la muestra simultáneamente.
- Ahorra mucho tiempo.
- Tiene gran resolución $\leq 0.001 \text{ cm}^{-1}$.
- Además, los datos experimentan una conversión de analógica a digital.
- Los resultados de IR se obtienen con rapidez y se tratan fácilmente.
- Las señales del espectro son resultado del promedio de varias medidas combinadas.
- Se obtienen espectros excelentes con cantidades muy pequeñas de muestra.
- Se emplea acoplado a sistemas de separación como el CG y el HPLC.
- Se obtiene espectros lineales tanto en unidades de $\tilde{\nu}$ o de λ con los mismos datos.

La parte más importante del equipo es el interferómetro. En éste, la fuente produce un haz estrecho de radiación monocromática y el divisor de haz refleja la mitad de la radiación y transmite la otra mitad. Cuando la radiación incide en el divisor en el punto O, una parte se refleja hacia un espejo fijo situado a una distancia OF y la otra se transmite a un espejo móvil a una distancia OM. Los rayos reflejados por los espejos regresan hacia el divisor de haz, donde una mitad de cada rayo se transmite y la otra se refleja. Un rayo recombinado se dirige al detector y otro regresa a la fuente. Los trayectos OM y OF no

¹²⁹ Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamericano, pp. 495 - 508, México (1992).

son iguales, por lo que las dos ondas que llegan al detector no están en fase. Si las dos ondas están en fase interferirán de manera constructiva para formar una onda cuya amplitud es 2 veces las amplitudes iniciales. Si las fases de las ondas difieren en $1/2 \lambda$ (180°), habrá interferencia destructiva, y las ondas se cancelan. Para cualquier valor intermedio de la diferencia de fase, habrá una cancelación parcial. Si un espejo se aleja del divisor de haz a velocidad constante, la luz que emerge hacia el detector pasa por una secuencia uniforme de máximos y mínimos a medida que la interferencia se alterna entre fases constructivas y destructivas, produciendo un interferograma. Éste es la gráfica de la intensidad de luz emergente en función del retardo δ (diferencia de longitud de trayectoria que siguen las dos ondas en el interferómetro: $2(OM - OF)$).

Ocurre interferencia constructiva máxima cuando δ es un múltiplo entero de la λ de la radiación y cuando δ es múltiplo de $1/2 \lambda$ es mínima. Si la luz de la fuente es monocromática, el interferograma es una onda coseno: $I(\delta) = B(\hat{u}) \cos(2\pi\delta/\lambda) = B(\hat{u}) \cos(2\pi \hat{u} \delta)$; en donde $I(\delta)$ es la intensidad de la radiación que llega al detector y \hat{u} es su número de onda. $B(\hat{u})$ es una constante en la que se consideran la intensidad de la fuente de luz, la eficiencia del divisor de haz y la respuesta del detector, estos factores dependen de \hat{u} . Si la radiación es monocromática sólo se tiene un valor de \hat{u} .

En un espectrofotómetro de TF, la muestra se coloca entre la salida del interferómetro y el detector. Como ésta absorbe ciertas λ de radiación, el interferograma comprende el espectro de la fuente menos el de la muestra. 1º se registra un interferograma de una referencia (celda y solvente), y lo transforma en un espectro. 2º se registra y se transforma en espectro el interferograma de una muestra en el mismo disolvente y celda. El cociente del 2º / 1º es el espectro de infrarrojo de la muestra. El interferograma se registra a intervalos discretos. La resolución del espectro es aproximada a $1/\Delta \text{ cm}^{-1}$, donde Δ es el retardo máximo. El divisor de haz y el detector imponen una limitación física sobre el intervalo de λ la fuente. El instrumento no puede responder a una λ que absorbe el divisor de haz a la cual el detector no responde. El divisor de haz para la región del infrarrojo 4000 a 400 cm^{-1} es una película de germanio depositada por evaporación en una placa de KBr. Para λ más grandes o $\Delta \hat{u} < 400 \text{ cm}^{-1}$ se usa una película de Mylar, (polímero orgánico).

Para controlar el intervalo de muestreo del interferograma, se hace pasar un rayo láser visible monocromático junto con la radiación infrarroja policromática. Éste produce una interferencia destructiva siempre que el δ sea un múltiplo $1/2 \lambda$ del láser. Estos valores nulos de la señal del láser, se observan con un detector de radiación visible y se usan para tomar un punto experimental de un interferograma de infrarrojo en cada 2º punto nulo del interferograma de luz. La precisión con que se conoce la ν del láser da una exactitud de 0.01 cm^{-1} en el espectro de infrarrojo. El interferograma completo se registra en segundos y se almacena en memoria. La calidad del espectro aumenta registrando gran cantidad de interferogramas y promediándolos antes de hacer el cálculo de la transformada.

Es muy importante estimar el nivel de ruido del equipo. Una forma simple de hacerlo es midiendo la amplitud máxima del ruido en una zona libre de señal. Una medida más precisa del ruido es el ruido cuadrático medio (rmc). $\text{rmc} = (1/\lambda_2 - \lambda_1) \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} [N(\lambda) - \bar{N}]^2$

$d\lambda)^{1/2}$. En donde: $N(\lambda)$ es el ruido a la longitud de onda λ , \bar{N} es el ruido promedio y la integración se efectúa entre λ_1 y λ_2 . Para medir el rmc se digitalizan los datos espectrales, para que los cálculos se realicen por computadora.

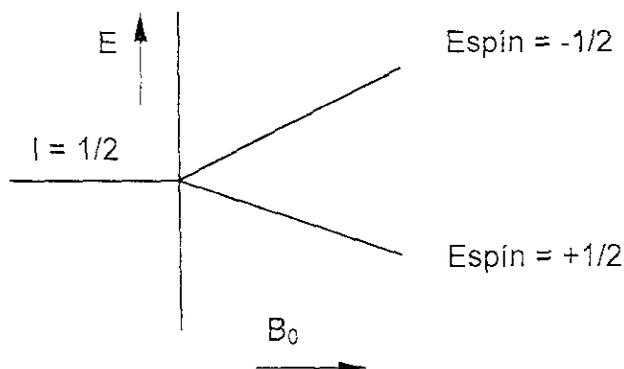
Como el ruido es aleatorio y puede ser positivo o negativo en cualquier punto del espectro, si se suman n espectros, la amplitud del ruido se incrementa en forma proporcional a \sqrt{n} (raíz cuadrada de n). Al promediar los espectros, la relación señal - ruido mejora en \sqrt{n} .

3.5.3. - RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

La espectrofotometría de resonancia magnética nuclear (RMN) es otra forma de espectrometría de absorción. Bajo condiciones apropiadas de un campo magnético B_0 , una muestra puede absorber radiación electromagnética en la región de radiofrecuencia, en ν determinadas. Esta absorción está en función de los núcleos de las moléculas, así tenemos RMN ^1H , de ^{13}C , y otros núcleos a los que se suministra un cuanto de energía $h\nu$ para efectuar una transición nuclear entre diversos niveles de energía. El espectro es una gráfica de las ν de absorción contra la intensidad de los picos. Junto con las otras espectroscopías la RMN es una herramienta indispensable en la identificación y caracterización de compuestos orgánicos, inorgánicos y organometálicos.

Todo núcleo lleva una carga. En algunos núcleos ésta gira sobre el eje nuclear generando un dipolo magnético a través del eje. El momento angular de la carga girando se describe en términos de número de espín (I), con valores de 0, 1/2, 1, 3/2 y así sucesivamente. La magnitud intrínseca del dipolo generado se expresa en términos del μ (momento magnético nuclear). I se determina a partir de la masa atómica y de número atómico. Varios núcleos tienen $I = 1/2$ y una distribución de carga esférica uniforme. De ellos, los más usados en RMN son el ^1H y el ^{13}C . Los núcleos que tienen un $I = 1$ o mayores tienen una distribución de carga no esférica descrita por un momento eléctrico cuadrupolar, el cual, afecta el tiempo de relajación y el acoplamiento con el núcleo vecino.

En términos de la mecánica cuántica, I determina el número de orientaciones que un núcleo puede asumir en un B_0 uniforme externo de acuerdo con la siguiente relación: $2I + 1$. Como el protón tiene $I = 1/2$; entonces hay 2 niveles de energía y un ligero exceso de población en el estado de más baja energía, de acuerdo al siguiente diagrama:



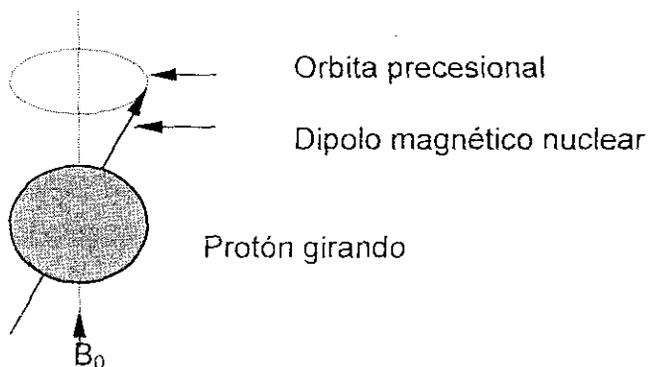
La ecuación fundamental en RMN que relaciona la radiofrecuencia con la inducción magnética del campo magnético es:

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

La constante γ o constante giromagnética, es una constante nuclear fundamental relacionada con el μ y el I de acuerdo a la ecuación:

$$\gamma = 2\pi \mu / h I$$

El problema es como transferir la energía electromagnética de radiofrecuencia a los ^1H alineados en un B_0 y como medir la energía absorbida por el ^1H para llegar al estado espín de alta energía. Esto se explica mejor en términos de la mecánica clásica, si visualizamos al ^1H girando en un B_0 externo con su eje magnético precesando alrededor del eje del B_0 externo en la misma forma que un trompo precesa bajo la influencia de la gravedad como se muestra en la figura:



La velocidad angular precesional (frecuencia de Larmor ω_0) se determina por: $\omega_0 = \gamma B_0$. Reestructurando la ecuación fundamental tenemos: $\gamma B_0 = 2\pi\nu$, entonces: $\omega_0 = 2\pi\nu$.

El fenómeno en general se explica con procesos de relajación durante la precesión, ya sea espín - espín o relajación transversa o bien proceso de relajación longitudinal o red de espín. La relajación se caracteriza por una transferencia de energía desde un núcleo a otro. Los equipos modernos trabajan con la técnica de pulsos y regulan el t de relajación.

3.5.3.1. - INSTRUMENTACIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS.

Los primeros espectrómetros usaban imanes permanentes o electroimanes con campos de 1.41, 1.87, 2.20 o 2.35 Teslas que corresponden a 60, 80, 90 o 100 MHz. Para tener mayor resolución y sensibilidad se construyeron instrumentos de 200 hasta 750 MHz. Los instrumentos arriba de los 100 MHz operan con imanes superconductores sobre helio frío (solenoides) y la técnica de pulsos de FT y tienen estabilidad y homogeneidad en los campos de frecuencia y magnético aplicados.

La muestra, en un disolvente deuterado en un tubo de 5.0 mm, se coloca en una sonda que contiene los espirales radiotransmisor y receptor, y un mecanismo para girar el tubo sobre su propio eje vertical para que se promedien las inhomogeneidades externas. Las cantidades de muestra usadas dependen del equipo: 60 MHz: 5 - 20 mg/0.4 mL de solvente. 500 MHz: bajo condiciones favorables es posible usar 1.0 μg o menos de un compuesto de peso molecular medio.

Los espectros obtenidos por barrido de onda continua o por pulsos de T de Fourier, muestran una serie de picos cuyas áreas son proporcionales al número de núcleos que representan. Las áreas de las señales se miden con un integrador electrónico que traza una serie de pasos con alturas proporcionales a las áreas de éstas. La cantidad de ^1H o de otros núcleos determinados por la integración se emplea para confirmar las fórmulas moleculares, para detectar picos ocultos, para determinar la pureza de la muestra y realizar un análisis cuantitativo. Las posiciones de las señales o corrimientos químicos (δ) se miden en unidades de frecuencia con respecto a una señal de referencia.

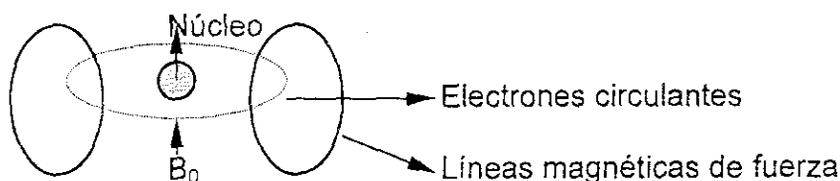
El disolvente ideal no debe contener ^1H , debe ser inerte, no polar, de bajo punto de ebullición y económico como CCl_4 y se emplea en equipos de barrido. Para instrumentos que trabajan la técnica de pulsos se usan disolventes deuterados, como CDCl_3 y si contiene impurezas de ^1H aparecen en δ 7.24, rara vez éstas interfieren seriamente.

La deformación en las señales se observan como resultado de B_0 , de rotaciones del tubo de la muestra no homogéneos y presencia de trazas de impurezas ferromagnéticas; generalmente son bandas dispuestas simétricamente en ambos lados del pico de absorción principal, otra forma de reconocer éstas es ver que su separación de la señal principal es igual a la velocidad de giro.

3.5.3.2. - DESPLAZAMIENTO QUÍMICO.

De la interacción de la energía de radiofrecuencia y un B_0 fuerte sobre un ^1H debe obtenerse solamente una señal. Sin embargo, los núcleos están protegidos por su nube de electrones, cuya densidad varía de acuerdo con sus ambientes químico y magnético. Esta variación da como resultado el corrimiento de las posiciones de las diferentes absorciones dentro de un rango de alrededor de 750 Hz en un campo magnético de 60 MHz o alrededor de 3750 Hz en un campo de 300 MHz.

Los electrones bajo la influencia de un B_0 circulan y generan a su vez su propio B opuesto al campo aplicado de acuerdo a la regla de la mano derecha ofreciendo un efecto de protección. En el caso de materiales con un electrón desapareado, el paramagnetismo asociado con el giro neto del electrón, predomina sobre el diamagnetismo de los electrones apareados circulantes. La protección diamagnética del núcleo por sus electrones circulantes se representa en la siguiente figura:



El grado de protección de un ^1H por un átomo de C depende del efecto inductivo de los grupos unidos a él. La diferencia en la posición de la absorción de un ^1H particular de la posición de la absorción de un ^1H de referencia se denomina corrimiento químico del ^1H particular. Los ^1H con diferentes ambientes químicos tienen diferentes corrimientos químicos y ^1H con el mismo ambiente químico tienen el mismo corrimiento químico.

Para establecer la escala de corrimiento químico se usa como referencia el tetrametil silano (TMS) que es químicamente inerte, la molécula es simétrica, es volátil (p. eb. 27°) y soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos, muestra un solo pico de absorción agudo y absorbe a campos más altos que todos los ^1H de compuestos orgánicos. En soluciones acuosas o de óxido de deuterio, el TMS se usa como referencia externa en un capilar concéntrico. El 2,2-dimetil-2silapentano-5-sulfonato de sodio (DSS), el acetonitrilo y el dioxano se usan como referencia interna en soluciones acuosas.

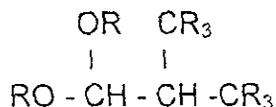
El corrimiento químico es adimensional, independiente de la ν aplicada. Cuando el corrimiento químico se da en Hz si debe especificarse la ν aplicada. Se tienen 2 escalas para medir el corrimiento químico: una escala δ que se expresan en ppm y asigna a la señal del TMS el valor 0.0 Hz y la coloca en el extremo derecho de la escala y se emplea universalmente. Otra describe el corrimiento químico en términos de τ y asigna el valor de 10.00 para TMS. Rara vez se encuentran corrimientos en campos más altos que TMS. El corrimiento químico en Hz es directamente proporcional a la intensidad B_0 , a la ν aplicada y a la protección diamagnética inducida por B_0 . Cuando se incrementa el B_0 aplicado, en el espectro se incrementan la separación de señales. El B_0 incrementa hacia la derecha.

La electronegatividad indica cual es la densidad electrónica alrededor de los ^1H , para TMS es alta y por lo tanto esos ^1H , están muy protegidos y sus picos aparecen en campos altos o extremo derecho de la escala. Se hacen buenas estimaciones de los corrimientos químicos usando los conceptos de electronegatividad y de la acidez de los ^1H . Hay excepciones que pueden explicarse por medio de los conceptos de protección, desprotección y el de anisotropía, así como el efecto de desprotección del anillo bencénico. Hay varias tablas que indican los diferentes corrimientos químicos.

3.5.3.3. - PATRONES DE ACOPLAMIENTO ESPÍN - ESPÍN.

Debe considerarse un fenómeno adicional, el acoplamiento de espín, éste es un acoplamiento indirecto de los espines de los ^1H por medio de la intervención de los enlaces electrónicos. Es decir, el espín del ^1H influye en los espines de los pares electrónicos que forman los enlaces, estos espines a su vez afectarán a los espines de otros electrones que forman otro enlace, y así sucesivamente. Estos acoplamientos no son importantes más allá de 3 enlaces excepto en sistemas de anillos o puentes, o enlaces delocalizados como en sistemas aromáticos y no saturados.

Si suponemos que dos ^1H vecinos tienen ambientes químicos muy diferentes como los del compuesto:



Cada ^1H dará una señal a δ diferentes y la absorción estará separada, pero como el espín de cada ^1H está afectado ligeramente por las dos orientaciones del otro ^1H a través de los electrones que intervienen, así que cada absorción aparece como un doblete. La diferencia de ν entre los picos del doblete es proporcional a la efectividad del acoplamiento que se denota como constante de acoplamiento, J, la cual es independiente del campo magnético aplicado y su valor se afecta por el cambio de disolvente. La

diferencia en el corrimiento químico entre los dos dobletes es mucho mayor que la J. Cuando la diferencia entre el corrimiento químico es cero, los picos medios coalescen, esto quiere decir que los ^1H son equivalentes. Los ^1H son equivalentes cuando sus espines se acoplan, y no se observa separación en las señales. El corrimiento químico depende del tipo de disolvente empleado; no depende del acoplamiento de espín.

El patrón de separación simple que se produce por el acoplamiento de ^1H que tienen corrimientos químicos muy diferentes se denomina patrón de separación o patrón de acoplamiento espín - espín de primer orden que al igual que la multiplicidad se interpretan usando las siguientes reglas:

1. El número de señales y su ubicación en la absorción de un ^1H están determinadas por los ^1H vecinos. La fórmula general que incluye a todos los núcleos para determinar el número de señales es: $2nI + 1$, en donde I es el número de espín del núcleo.
2. La intensidad relativa de los picos de un multiplete también depende de n, de acuerdo a la fórmula general $(a + b)^n$, que describe el triángulo de Pascal, en el cual n es el número de ^1H equivalentes acoplados.
3. Núcleos de un grupo equivalente que no interactúan entre sí, dan una señal simple.
4. Si hay más de dos grupos no equivalentes interactuando, la multiplicidad de uno de ellos, será $(2nI + 1)(2n'I + 1)$, en donde n, n' ..., representan el número de núcleos de espín equivalente que interactúan.

La RMN tiene muchas aplicaciones cuantitativas en análisis de mezclas de isómeros cis - trans, análisis de mezclas isoméricas y racémicas, análisis de medicamentos, determinación de curvas de equilibrio vapor líquido, determinación de características moleculares, como el peso molecular, equilibrios intra e intermoleculares, determinación de velocidades de reacción, análisis conformacional y estructural, entre otras.

3.5.4. - ESPECTROSCOPIA ATÓMICA¹³⁰

En la espectroscopía atómica, las muestras se vaporizan a temperaturas muy altas y las concentraciones de átomos seleccionados se determinan midiendo la absorción o la emisión en sus λ características. Sus ventajas son alta sensibilidad, facilidad de analizar muchas muestras y determina concentraciones de analito en ppm y hasta en ppb. Las muestras muy concentradas, se diluyen. Raras veces su precisión es mayor a 1 o 2 %. Sus espectros son gráficas de líneas muy estrechas, que ofrecen poca superposición y provienen de transiciones entre estados electrónicos de los átomos. Cada elemento tiene su espectro característico.

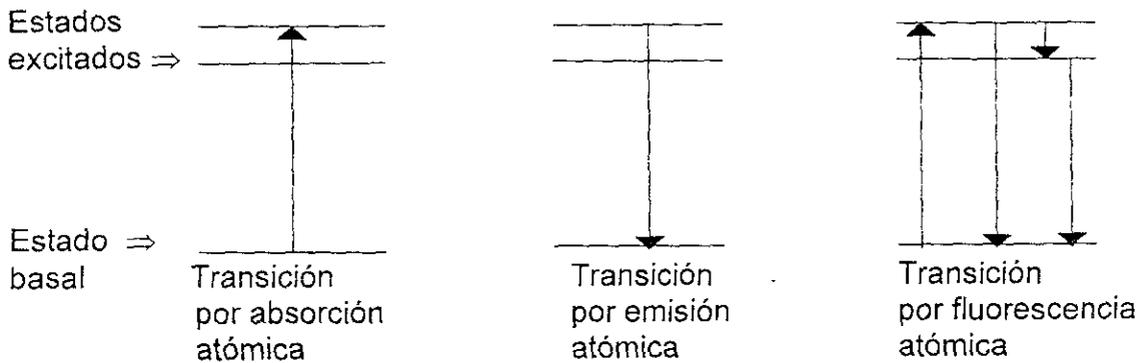
3.5.4.1. - ABSORCIÓN, EMISIÓN Y FLUORESCENCIA.

La espectroscopía atómica es de tres clases: de absorción, de emisión y de fluorescencia. En la absorción los átomos absorben parte de la luz de la fuente, la luz no absorbida es la que se detecta. La emisión proviene de átomos que se encuentran en estado excitado por la elevada energía térmica de flamas y emiten fotones para alcanzar su estado basal. Para la fluorescencia el átomo debe excitarse primero por absorción de radiación. El

¹³⁰ Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamericano. pp. 495 – 908, México (1992). Skoog D. A. Y West D. M. Química Analítica. 4ª Ed. pp. 440 – 509, México (1989).

átomo puede emitir la misma λ que absorbió, o bien puede caer a otros estados y emitir otras. El equipo de fluorescencia, mil veces más sensible, no se utiliza todavía.

A continuación se muestran los esquemas de la absorción, la emisión y la fluorescencia atómicas:



En equipos de absorción la muestra líquida se aspira hacia la flama con temperatura de 2000 a 3000 K. El trayecto óptico de la flama suele ser de 10 cm. Para medir la absorbancia de luz producida por diversos átomos, la fuente de radiación utiliza un cátodo diferente que emite luz con las frecuencias características de éstos.

En la emisión no se necesita una fuente de luz. Algunos de los átomos en la flama se excitan por colisión y emiten su radiación característica al regresar a su estado basal. La intensidad de la emisión de un elemento a una λ característica es proporcional a su concentración en la muestra. En la emisión atómica es fundamental que la flama sea muy estable, para evitar que la intensidad de la emisión varíe significativamente. En absorción, la variación de la temperatura de la flama no es tan crítica. En ambas espectroscopías se usan curvas de calibración para relacionar correctamente la señal y la concentración.

3.5.4.2. - ATOMIZACIÓN: FLAMAS, HORNOS Y PLASMAS¹³¹.

La diferencia esencial entre la espectroscopía atómica y la ordinaria es que la muestra se atomiza con una flama, con un horno calentado eléctricamente, o con un plasma de radiofrecuencia. La sensibilidad y los efectos de interferencia en ella dependen del método de calentamiento.

El método de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo, se usa para determinar el contenido de elementos inorgánicos. Se comercializó a mediados de los 70. Por definición, un plasma es una mezcla gaseosa conductora que contiene una concentración significativa de cationes y electrones. En el plasma de argón que se emplea para los análisis de emisión, los iones de argón y los electrones son las principales especies conductoras, junto con los cationes de la muestra. Cuando los iones de argón, se constituyen en un plasma, absorben suficiente energía de una fuente externa para mantener la temperatura adecuada para que se produzcan nuevas ionizaciones que conserven el plasma indefinidamente; se alcanzan 10,000 K. La emisión de plasma de Ar

¹³¹ Idem 138.

usa 3 fuentes de energía: una de corriente eléctrica continua, que mantiene una corriente de varios amperes entre los electrodos sumergidos en el plasma. La 2ª y 3ª, son potentes generadores de radiofrecuencia y de microondas y a través de ellos fluye Ar. La fuente de radiofrecuencia o plasma acoplado por inducción (ICP), ofrece ventajas en cuanto su temperatura, sensibilidad y gran estabilidad que elimina muchas interferencias y fuentes de error. Su desventaja es el alto costo de adquisición y de operación.

La fuente de ICP o antorcha consiste en 3 tubos concéntricos de cuarzo, a través de ellos fluye una corriente de Ar de alta pureza a una velocidad entre 11 y 17 L/min. El diámetro del tubo mayor es 2.5 cm aprox. Una bobina de inducción rodea la parte superior del tubo con dos espiras refrigerada por agua alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una energía de 2 kW a unos 27 MHz. La ionización del flujo de Ar, se inicia por una chispa de una bobina Tesla. Los iones y sus electrones asociados, interaccionan con el B fluctuante, producido por la bobina de inducción, haciendo que fluyan en las trayectorias circulares cerradas dentro de ésta. Los iones acelerados transfieren energía a todo el gas mediante colisiones entre los átomos. Una vez iniciado el proceso los iones absorben del campo eléctrico la energía suficiente para mantener el plasma a temperatura de 6,000 a 10,000 K. Es tal el calor que la antorcha de cuarzo debe enfriarse con un flujo de Ar que fluye alrededor del borde externo de la antorcha. El flujo tangencial enfría las paredes internas del tubo central y centra el plasma en posición radial.

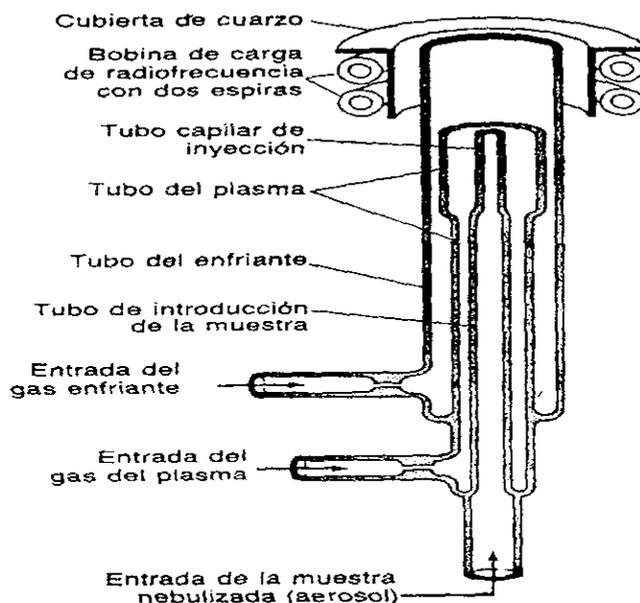


Figura 21-10

Diagrama de una antorcha para plasma de acoplamiento inductivo. [R. N. Savage y G. M. Hieftje, *Anal. Chem.*, **51**, 408 (1979).]

En la siguiente figura se presenta un corte longitudinal de la antorcha de un ICP.

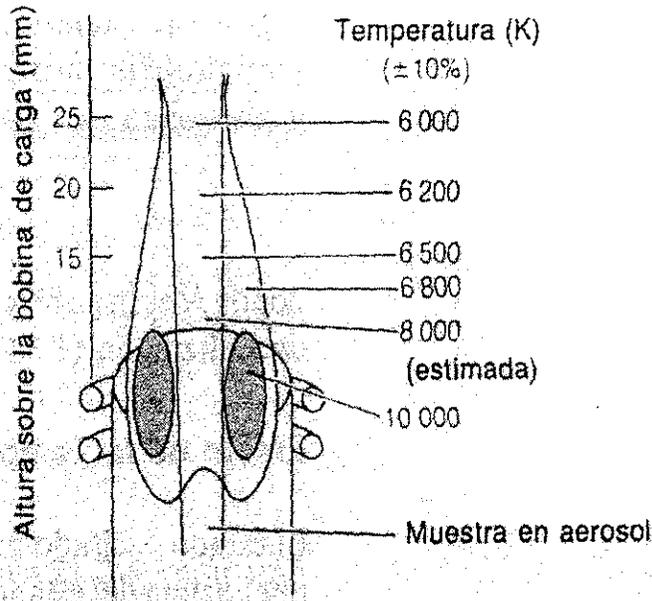


Figura 21-11

Perfil de temperatura de un plasma de acoplamiento inductivo típico usado en espectroscopía analítica. [V. A. Fassel, *Anal. Chem.*, 51, 1290A (1979).]

Los iones observados en la flama cuando se utiliza una muestra acuosa son Ar^+ , O^+ , ArH^+ , H_2O^+ . También se analiza el plasma por espectrometría de masa, éste es más sensible que el realizado por emisión atómica. La mezcla se introduce en el plasma mediante un nebulizador. Un nebulizador ultrasónico reduce la concentración de analito hasta en 10 a 20 veces. La muestra se coloca en un cristal piezoeléctrico que oscila a una frecuencia de 1.0 MHz, generando un aerosol muy fino, transportado por una corriente de Ar hasta la flama de plasma como una fina nube seca. Como no se consume energía de la flama en evaporar el solvente, se tiene más energía disponible para la atomización. La temperatura determina el grado de atomización de una muestra y la magnitud en que un átomo se encuentre en sus estados basal, excitado o ionizado.

3.3.4.3. - DISTRIBUCIÓN DE BOLTZMANN.

Si existe equilibrio térmico (por encima del cono azul de la flama), las poblaciones relativas de dos niveles de energía dados se definen por: $N^*/N_0 = g^*/g_0 e^{-\Delta E/kT}$; N es la población de cada estado, T la temperatura en Kelvin y k es la constante de Boltzmann.

El plasma tiene un perfil de temperatura más uniforme que produce intensidades de emisión más reproducibles. Un plasma típico, tiene un núcleo no transparente de color blanco brillante muy intenso, que termina en una cola en forma de llama, se extiende algunos milímetros por encima del tubo y está formado por una emisión continua a la que

se superpone el espectro atómico del Ar. La fuente de emisión continua procede de la recombinación del Ar y otros iones con los electrones. En 10 a 30 mm por encima del núcleo, la emisión continua se extingue y el plasma es ópticamente transparente. Las observaciones se hacen a una altura de 15 a 20 mm, por encima de la bobina de inducción, el tiempo de residencia de los átomos aproximado de 2 ms. En esta región del plasma, muchas de las líneas más sensibles del analito proceden de iones como Ca^+ , Ca^{2+} , Cd^+ , Cr^{2+} y Mn^{2+} . Los tiempos y temperaturas de atomización son 2 o 3 veces mayores a los correspondientes a las llamas de combustión más calientes (acetileno - óxido nitroso) por ello ésta es más completa y las interferencias químicas por ionización son menores o nulas, porque la gran concentración de electrones de la ionización del Ar reprime la ionización de los componentes de la muestra.

La atomización ocurre en un medio químicamente inerte, aumentando el tiempo de vida del analito, la temperatura de la sección transversal del plasma es uniforme por lo que no se producen efectos de autoabsorción y autoinversión y proporcionan datos analíticos cuantitativos mejores que las otras fuentes de emisión, la calidad de estos resultados, se debe a su alta estabilidad, menor ruido, baja señal de fondo y ausencia de interferencias de las fuentes cuando operan en condiciones experimentales adecuadas. Los límites de detección son comparables o incluso mejores que otros procedimientos. Las curvas de calibración tienden a ser lineales dentro de varios órdenes de concentración.

3.5.5. - REOLOGÍA¹³².

La reología, es parte de la mecánica, estudia la deformación y el flujo de los materiales bajo la influencia de fuerzas externas aplicadas a ellos; los sólidos y los líquidos pueden someterse a diferentes tipos de fuerzas. La reología es la ciencia del flujo (del griego ρεος - rheos - río). La reología explica los siguientes fenómenos: el comportamiento cuando caen al suelo agua, plastilina o una bola de acero, que pelotas de diferentes materiales en una columna de agua dentro de un tubo de vidrio floten o se hundan bajo cierta presión, el trabajo diferente que tenemos que hacer al agitar diferentes sustancias con varillas, el bote diferente de sustancias diferentes, sólidas o fluidos dependiendo de la duración de su resistencia, la forma como fluye una crema al aplicarla en la piel, etc.

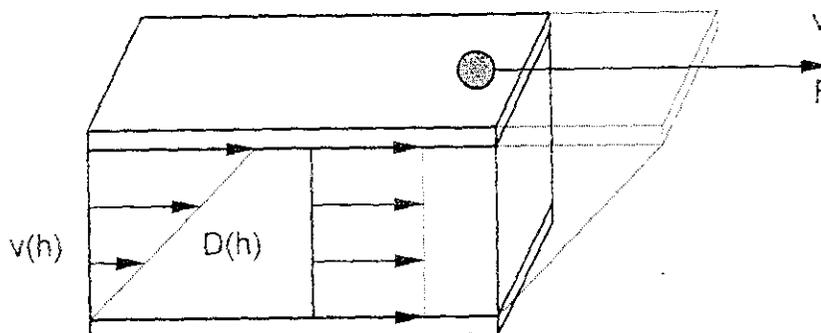
El comportamiento de flujo o de tensión o esfuerzo de una sustancia depende de: la temperatura, el tipo de fuerza aplicada, la cantidad de fuerza, la duración de la fuerza, el tipo de resistencia, los valores de pH, la concentración y la intensidad de campos magnético o eléctrico. Las sustancias desde el punto de vista reológico pueden ser viscosas, elásticas y viscoelásticas y los fenómenos a los que se puede someter una sustancia son rotatorios y oscilatorios.

Para fenómenos rotatorios el comportamiento de flujo de sustancias viscosas, se explica por el modelo de 2 platos: el plato superior con una superficie A (m^2) se mueve por acción de una fuerza F (N) con una velocidad v (ms^{-2}). El plato inferior está fijo. Entre ambos platos existe una superficie de sustancia con una altura h (m), la cual está

¹³² Gaspar Rosas Abel. Short Course in Rheology. Paar Physica. USA (1991).

adherida a ambos platos y se rompe o es cizallada. Para obtener medidas reológicas deben establecerse un conjunto de flujos laminares, no turbulentos. Las pruebas de cizalla o rompimiento deben hacerse en un viscosímetros rotatorio.

A continuación se ilustra el modelo de 2 platos:



Las propiedades reológicas que se determinan a las sustancias son:

- A) El esfuerzo cortante: $\tau = F A^{-1} = \text{Pa} = [\text{N}][\text{m}^{-2}]$
 B) Velocidad de cizalla o velocidad de rompimiento: γ o $D = v h^{-1} = [\text{s}^{-1}]$
 C) Viscosidad. Existen dos tipos de viscosidad, la dinámica (η) y la cinemática (ν) se mide con viscosímetros capilares: $\eta = \tau D^{-1} = [\text{Pas}]$; $1 \text{ Poise} = 100 [\text{mPas}]$ y $\nu = \eta \rho^{-1} = [\text{m}^2][\text{s}^{-1}] = 10^{-6} [\text{mm}^2] [\text{s}^{-1}] = 10^{-6} \text{ cSt (centi stokes)}$.

El comportamiento de flujo de una muestra, respecto al esfuerzo o carga, se representa por curvas de flujo y curvas de viscosidad. En las curvas de flujo se muestra la relación entre el esfuerzo cortante τ y la velocidad de cizalla D . En las curvas de viscosidad, la viscosidad obtenida de la curva de flujo y la velocidad de cizalla. Existen cuatro tipos de comportamiento de los fluidos de acuerdo a la resistencia: Newtoniano, pseudoplástico, dilatante y plástico.

- **Comportamiento Newtoniano.** La viscosidad de estas sustancias, idealmente viscosas, no depende de la carga, peso o resistencia. Su ecuación es: $\tau = \eta D$. Ejemplos: el agua, aceite mineral, solventes, betún, plasma sanguíneo.
- **Comportamiento Pseudoplástico.** La viscosidad de estas sustancias depende inversamente de la masa y de D . El valor de la viscosidad no es constante, se denomina viscosidad aparente. El esfuerzo cortante es exponencial a la velocidad de cizalla. Ejemplos: soluciones de polímeros, polímeros fundidos, pinturas, barnices, champú, cola, aceite comestible. Los modelos matemáticos son 2. Modelo de Ostwald: $\tau = m \cdot D^p$ (con $p < 1$) y Modelo de Stiger y Ory: $D = a\tau + c\tau^3$.
- **Comportamiento Dilatante.** La viscosidad varía en proporción directa a la masa y parabólicamente a D . El modelo Ostwald: $\tau = m \cdot D^p$ ($p > 1$). Ejemplos: dispersiones altamente concentradas de almidón, arena húmeda, ciertas soluciones surfactantes, algunas suspensiones cerámicas.
- **Comportamiento Plástico, punto de fluidez (yield point).** Es el valor máximo de esfuerzo cortante cuando la velocidad de rompimiento es de 0 s^{-1} . Materiales con un punto de fluidez son sustancia que solamente, empiezan a fluir cuando se les aplica una fuerza externa tan grande que las fuerzas estructurales actúan en el material.

Debajo de este punto el comportamiento del material es plástico, por ejemplo material sólido que no se deforma. La prueba de la varilla es un experimento para determinar el punto de fluidez: consiste en introducir en dos diferentes sustancias unas pequeñas varillas y observar su movimiento: 1. si la varilla permanece vertical, hay punto de fluidez, 2. si la varilla se cae o inclina, no hay punto de fluidez (pero puede existir una viscosidad muy alta). Se aplican las siguientes reglas: 1ª si $F_{ext} \leq F_{int}$, la sustancia no fluye; 2ª si $F_{ext} \geq F_{int}$, la sustancia fluye. Ejemplos: pasta dental, muchas salsas de tomate, pasta de PVC, dispersión de pinturas, suspensiones de cerámica, tintas tipográficas, lápices labiales, cremas, chocolate fundido, mantequilla, pastas conductoras. Los modelos matemáticos son: a) Modelo de Bingham: $\tau = f_B + \eta_B \cdot D$, f_B es el punto de fluidez y se determina en la gráfica como la intersección con el eje τ y η_B es la viscosidad de Bingham. b) Modelo de Casson: $\sqrt{\tau} = \sqrt{f_C} + \sqrt{\eta_C} \cdot D$; f_C es el punto de fluidez de acuerdo a Casson y η_C es la viscosidad de Casson. c) Modelo de Herschel y Bulkley: $\tau = f_H + m \cdot D^p$; f_H es el punto de fluidez, para material pseudoplástico $p < 1$ y para sustancias dilatantes $p > 1$.

Cuando estudiamos el comportamiento del fluido con respecto al tiempo tenemos dos tipos: tixotrópico y reopéctico

El comportamiento tixotrópico degrada la estructura de la sustancia durante la fase de aplicación de la fuerza causando reducción de la dureza. Durante la fase de relieve se recupera la estructura original. Este proceso es reversible. La tixotropía se determina solamente bajo una fuerza o carga constante. Si una sustancia no restituye su estructura original después de un largo tiempo, esto se denomina "falsa tixotropía". Ejemplos: las geles, pastas, cremas, barnices, sangre, salsas de tomate, etc.

El comportamiento reopéctico significa la construcción de una superestructura en la sustancia durante la fase de aplicación de la fuerza y así causa un incremento de dureza. Durante la fase de relieve esta superestructura se degrada completamente. Este proceso es reversible. La reopexia describe el comportamiento del flujo dependiendo del tiempo bajo una carga o fuerza constante. Este comportamiento es raro de encontrar. Ejemplos: dispersiones de látex, suspensiones cerámicas y soluciones tensoactivas.

3.5.5.1. - EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LOS FLUIDOS.

La viscosidad de una muestra depende de la temperatura, en la mayoría de los casos la dureza se reduce si aumenta ésta. Es necesario especificar la temperatura en cada medida, porque es uno de los parámetros de prueba en los experimentos reológicos y son muy importantes los métodos usados para controlar la temperatura en las muestras. En general la viscosidad varía de manera inversa respecto a la temperatura.

También existen modelos matemáticos para describir el comportamiento de sustancias elásticas y viscoelásticas.

3.5.5.2. - REOMETRÍA.

La reometría describe métodos de medida e instrumentos que registran los datos reológicos. Los reómetros son los instrumentos de medida de las propiedades reológicas, los más simples son aquellos donde solo se realizan prueba rotatorias como el MC1, y los

más sofisticados realizan también pruebas oscilatorias con VT 550, RT 20, MS100, LS entre otros. La selección del equipo depende del material y la prueba reológica deseada (oscilatoria y/o rotatoria). En general las pruebas que pueden efectuarse son:

| PRUEBAS ROTATORIAS | | | |
|---|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Controlando τ | Tixotropía/reopexia | Controlando D | Tixotropía/reopexia |
| 1. Perfil de τ : $\tau(t)$ | 1. Perfil de τ : $\tau(t)$ | 1. Perfil de D: D(t) | 1. Perfil de D: D(t) |
| 2. Curva flujo: $\tau(D)$ | 2. Curva: $\eta(t)$ | 2. Curva flujo: $\tau(D)$ | 2. Curva: $\eta(t)$ |
| 3. Curva de η : $\eta(D)$ | 3. Curva flujo: $\tau(t)$ | 3. Curva de η : $\eta(D)$ | 3. Perfil de D: D (t) |
| 4. Curva: $\tau(t)$, $\tau = \text{cte.}$ | 4. Curva flujo: D(τ) | 4. Curva: D(t) | 4. Curva Flujo: $\tau(D)$ |
| 5. Curva: D(t). | 5. Curva: $\eta(D)$ | 5. Curva: $\tau(t)$ | 5. Curva: $\eta(D)$ |
| 6. Curva: $\eta(t)$ | 6. Curva: T(t), $\tau = \text{cte.}$ | 6. Curva: $\eta(t)$ | 6. Perfil: T(t), D = cte. |
| 7. Pruebas Creep: $\tau(t)$ | 7. Curva: D(T). | | 7. Curva D, T: $\tau(T)$ |
| 8. Curva de Creep y relajación: $\gamma(t)$ | 8. Curva: $\eta(T)$ | | 8. Curva: $\eta(T)$ |
| 9. Pruebas de esfuerzo: $\gamma(t)$ | | | |
| 10. Curva de esfuerzo : $\tau(t)$ | | | |
| 11. Prueba de relajación: $\gamma(t)$ | | | |
| 12. Curva de relajación: $\tau(t)$ | | | |

τ : esfuerzo cortante, D: velocidad de corte o cizalla, η : viscosidad, t: tiempo, T: temperatura, γ : velocidad de cizalla.

| PRUEBAS OSCILATORIAS | |
|---|---|
| 1. Prefijando una frecuencia y amplitud constantes. | <p>a) Para strain controlado: curva strain.- $\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con γ_0 y ω constantes.</p> <p>b) Para esfuerzo controlado: curva de esfuerzo.- $\tau(t) = \tau_0 \cdot \text{sen } \omega t$, τ_0 y $\omega = \text{constantes}$.</p> <p>Se pueden determinar los siguientes parámetros: módulo de corte complejo G^*, módulo de almacenamiento G', módulo de pérdida G'', viscosidad compleja η^*, viscosidad real e imaginaria (η', η''), ángulo de pérdida δ o factor de pérdida $\text{tg } \delta$.</p> <p>c) Curvas G' y G'' vs γ; G' y G'' vs ω.</p> |
| 2. Estableciendo la amplitud con la frecuencia constante. | <p>a) Con strain controlado (barrido de strain amplitudes): curva de strain.- $\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con $\omega = \text{cte.}$, y $\gamma_0 = \gamma_0(t)$.</p> <p>b) Con esfuerzo controlado (barrido de amplitudes de esfuerzo): curva de esfuerzo.- $\tau(t) = \tau_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con $\omega = \text{cte.}$, y $\tau_0 = \tau_0(t)$.</p> <p>c) Gráficas $\gamma(t)$ y $\log G'$ vs $\log \gamma$; los resultados se grafican contra γ y contra τ.</p> |
| 3. Determinación de la | a) Con strain controlado: curva log de G' y log de G'' vs $\log \gamma$. |

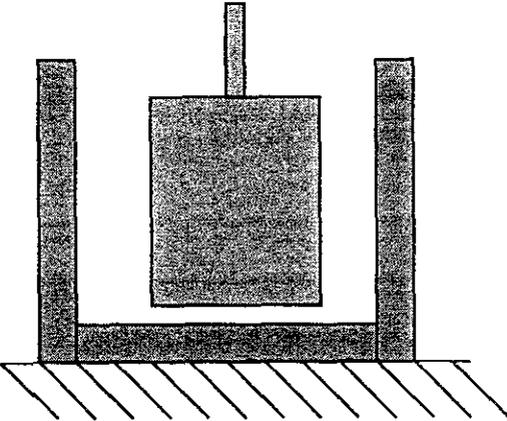
| | |
|--|--|
| estabilidad de sustan. viscoelásticas | b) Con control de esfuerzo: curvas $G'(\tau)$ y $G''(\tau)$. |
| 4. Estudio de la ω con la γ_0 constante. | <p>a) Con strain controlado (barrido de las frecuencias de strain): curva de strain.- $\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con $\omega = \omega(t)$ y $\gamma_0 = \text{cte}$.</p> <p>b) Con esfuerzo controlado (barrido de las frecuencias de esfuerzo): $\tau(t) = \tau_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con $\omega = \omega(t)$ y $\tau_0 = \text{cte}$.</p> <p>c) Gráficas $\gamma(t)$ y $\log G'$ y los G'' vs $\log \omega$. Los resultados obtenidos se grafican regularmente respecto a la ω o a la f.</p> <p>d) Estas pruebas sirven para determinar: 1) como depende el comportamiento strain de la frecuencia en sustancias viscoelásticas químicamente no eslabonadas, tanto para sustancias de bajo peso molecular y distribución cerrada de éstos como para sustancias con pesos moleculares altos y amplia distribución de éstos. 2) como depende el comportamiento strain de la frecuencia de sustancias viscoelásticas químicamente eslabonadas o entrecruzadas. c) como depende el comportamiento strain de la frecuencia de sustancias viscoelásticas con punto de fluidez.</p> |
| 5. Medidas en función del t, manteniendo la ω y la γ_0 constantes. | <p>a) Con strain controlado: curva de strain: $\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \text{sen } \omega t$; γ_0 y $\omega = \text{constantes}$.</p> <p>b) Con esfuerzo controlado: $\tau(t) = \tau_0 \cdot \text{sen } \omega t$, ω y $\tau_0 = \text{ctes}$.</p> <p>c) Gráficas de $\gamma(t)$ y $\log G'$ vs t. Los resultados se grafican contra el tiempo. Estas pruebas sirven para determinar el comportamiento de sustancias viscoelásticas sin cambio químico y con cambio químico a través del tiempo.</p> |
| 6. Medidas en función de la T, con la ω y la γ_0 constantes. | <p>a) Con strain controlado: $\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con ω y $\tau_0 = \text{ctes}$.</p> <p>b) Con esfuerzo controlado: $\tau(t) = \tau_0 \cdot \text{sen } \omega t$, con ω y $\tau_0 = \text{ctes}$.</p> <p>c) Gráficas: $\gamma(t)$, $T(t)$, $\log G'$ vs T. Estas pruebas sirven para determinar el comportamiento strain de sustancias viscoelásticas que sufren cambio químico o sin cambio químico respecto a T, tal como los polímeros tanto naturales como sintéticos.</p> |

γ_0 : amplitud, ω : frecuencia angular, t: tiempo, T: temperatura, τ : esfuerzo cortante, γ : deformación,

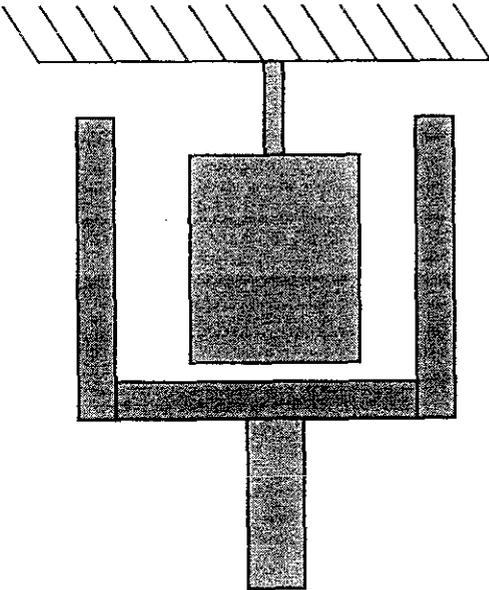
El sistema de medida del viscosímetro rotacional consiste de una parte fija y otra rotatoria. En una prueba rotacional con velocidad de cizalla controlado, el torque se mide tal que la medida de agitación es la expuesta por la fricción interna de la muestra viscosa. El torque se detecta por medio de un sensor de fuerza. Existen 2 principios de medida: El Searle en donde el cilindro es el que gira y el Couette en donde el cilindro está fijo.

Dentro de los sistemas de medida tenemos: el de cilindros concéntricos, el sistema de medida de doble (gap) abertura, el de gran corte, el de cono y plato, el de plato - plato. Además los sistemas de medida cuentan con aditamentos que regulan y miden la temperatura, la velocidad de cizalla, la viscosidad, el tiempo y demás propiedades reológicas.

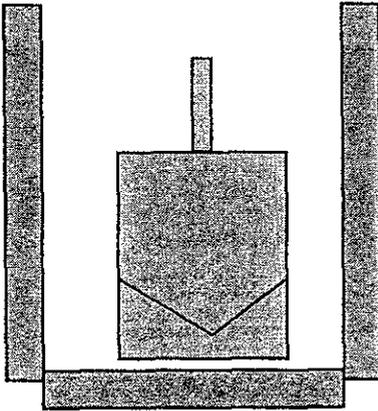
Los siguientes diagramas muestran algunos sistemas y geometría de medida:



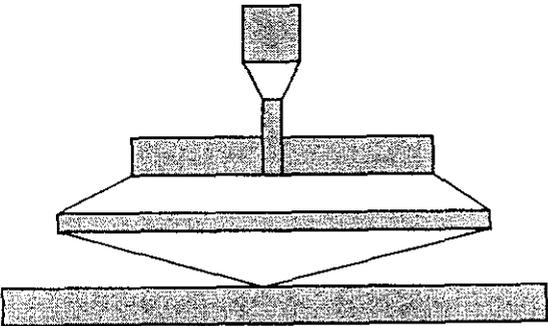
Sistema Searle



Sistema Couette



Sistema de medida de cilindro



Sistema de cono y plato

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1. - ESCALDADO, DESPULPADO Y CONSERVACION DEL FRUTO.

Se lavaron 60.0 Kg de tejocote con agua fría. Posteriormente se sumergen porciones de 1.0 Kg en agua caliente (90.0 C) se sacan y se remueve la cáscara. Inmediatamente se procede a despulpar, ambos procesos se realizaron manualmente.

La pulpa se introduce en una solución que contiene una mezcla de sulfito de sodio al 0.02% y benzoato de sodio al 0.02%. Se muele la pulpa (15") y se congela a -4.0 C.

4.2. - SECADO DE LA PULPA Y LA PECTINA OBTENIDA.

Como no se contaba con una liofilizadora, se procedió a secar la pulpa y la pectina de tejocote por varios métodos:

- **SECADO CONVENCIONAL DE LA PULPA.** Empleando una estufa, previa esterilización de las charolas y frascos y una cubierta para evitar que se oscurezca la pulpa (T: 95.0 C).
- **SECADO DE LA PULPA EN CORRIENTE DE AIRE.** Empleando la campana de extracción, previamente esterilizada (con benzal), con mechero Fisher, cubriendo la muestra y sin cubrirla.
- **SECADO DE LA PULPA EN PARRILLA DE CALENTAMIENTO A BAÑO MARÍA.** Hasta que el peso de la muestra sea constante.
- **SECADO DE LA PULPA EN HORNO DE MICROONDAS¹³³.** Se realizaron las siguientes actividades:
 - a) Las pruebas de secado de la pulpa de tejocote de la variedad H, empleando un horno de microondas se llevaron a cabo en cajas Petri, con la muestra cubierta y sin cubrir. La cantidad de muestra empleada fue de 20.0 g de pulpa congelada. Se fue variando el tiempo de secado hasta encontrar el óptimo.
 - b) Posteriormente se efectuaron las pruebas en placas para cromatografía en capa fina de 20X20 cm y 5.0 mm de espesor. El tiempo de secado empleado se calculó a partir de las observaciones con las cajas Petri. Al determinar el tiempo de secado hay que cuidar que la pulpa no se oscurezca o se queme, por lo que se fue incrementando éste paulatinamente para precisar cuál es el más adecuado.
 - c) Se efectuó el cálculo teórico de la temperatura que alcanza el horno de microondas¹³⁴. Para comprobar el cálculo teórico de la temperatura del horno, se determinó la temperatura con un "termopar" HOOKE DT20¹³⁵.
- **SECADO DE LA PULPA Y DE LA PECTINA EXTRAÍDA EN UN CALENTADOR SOLAR.** Dimensiones 1.0 m X 0.40 m. Se introducen porciones de 50.00 g en cajas Petri abiertas extendida en toda la caja. La temperatura máxima que alcanza el calentador es hasta de 42.0 C.

¹³³ Giese J., Advances in Microwave Food Processing. Food Technology 1992.

¹³⁴ Anexo 1.

¹³⁵ Anexo 2.

- **SECADO DE LA PECTINA EXTRAÍDA EN MALLAS DE PLÁSTICO TEMPERATURA AMBIENTE.** La temperatura es de 24.0 C, se extiende el gel obtenido sobre la malla.

4.3. - ANALISIS BROMATOLÓGICO DE PULPA DE TEJOCOTE Y PECTINA.

El análisis consistió en determinar: humedad¹³⁶, cenizas¹³⁷, proteínas¹³⁸, extracto etéreo (grasas)¹³⁹ y fibra cruda¹⁴⁰ (solo en la pulpa), de acuerdo con las técnicas del A.O.A.C.¹⁴¹.

4.4. - EXTRACCION DE PECTINA.

En la literatura se encontraron diversos métodos de extracción de pectina, en general se pueden clasificar como ácidos, básicos y neutros (empleando soluciones extractoras en medio casi neutro). Los métodos se eligieron tomando en cuenta que fueran aplicados a pulpas de frutas, para que las extracciones no fueran tan drásticas como las que se emplean al tratar cáscaras y semillas, contar con todos los insumos necesarios y que el empleo de los insumos fuera económicamente rentable.

Los métodos de extracción que se aplicaron para la pulpa fresca de tejocote son:

1. Método aplicado a la pulpa de Kiwi.
2. Método de extracción modificado del método de Kiwi.
3. Método de extracción empleando ácido oxálico como agente extractante.
4. Método de extracción empleando EDTA como agente extractante.
5. Método de extracción acuoso.
6. Método de extracción secuencial de pectina.

Otros métodos que se emplearon para la extracción pero que presentan varios problemas son:

1. El reportado para betabel¹⁴², el cuál propone ajustar el pH a 1.0, luego reflujar, neutralizar con NaOH hasta un pH de 4.5, centrifugar, el sobrenadante se dializa, se concentra al vacío y se precipita la pectina en etanol.
2. El reportado para bagazo de manzana¹⁴³.

4.4.1. - MÉTODO DE EXTRACCION DE PECTINAS APLICADO A PULPA DE KIWI¹⁴⁴.

Es un método de extracción ácida, inicialmente se extraen con etanol las enzimas y los colorantes, posteriormente se acidifica la solución y se extrae la pectina. Se seca durante un período entre 18.0 y 20.0 h. Este método se muestra en el diagrama 4.4.1.

¹³⁶ AOAC.14.003. 1984.

¹³⁷ AOAC.14.006. 1984.

¹³⁸ AOAC.42.014. 1970.

¹³⁹ AOAC.7.062. 1984.

¹⁴⁰ AOAC.7.068 (d), 7.073. 1984.

¹⁴¹ Official methods of analysis. 14th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. USA (1984).

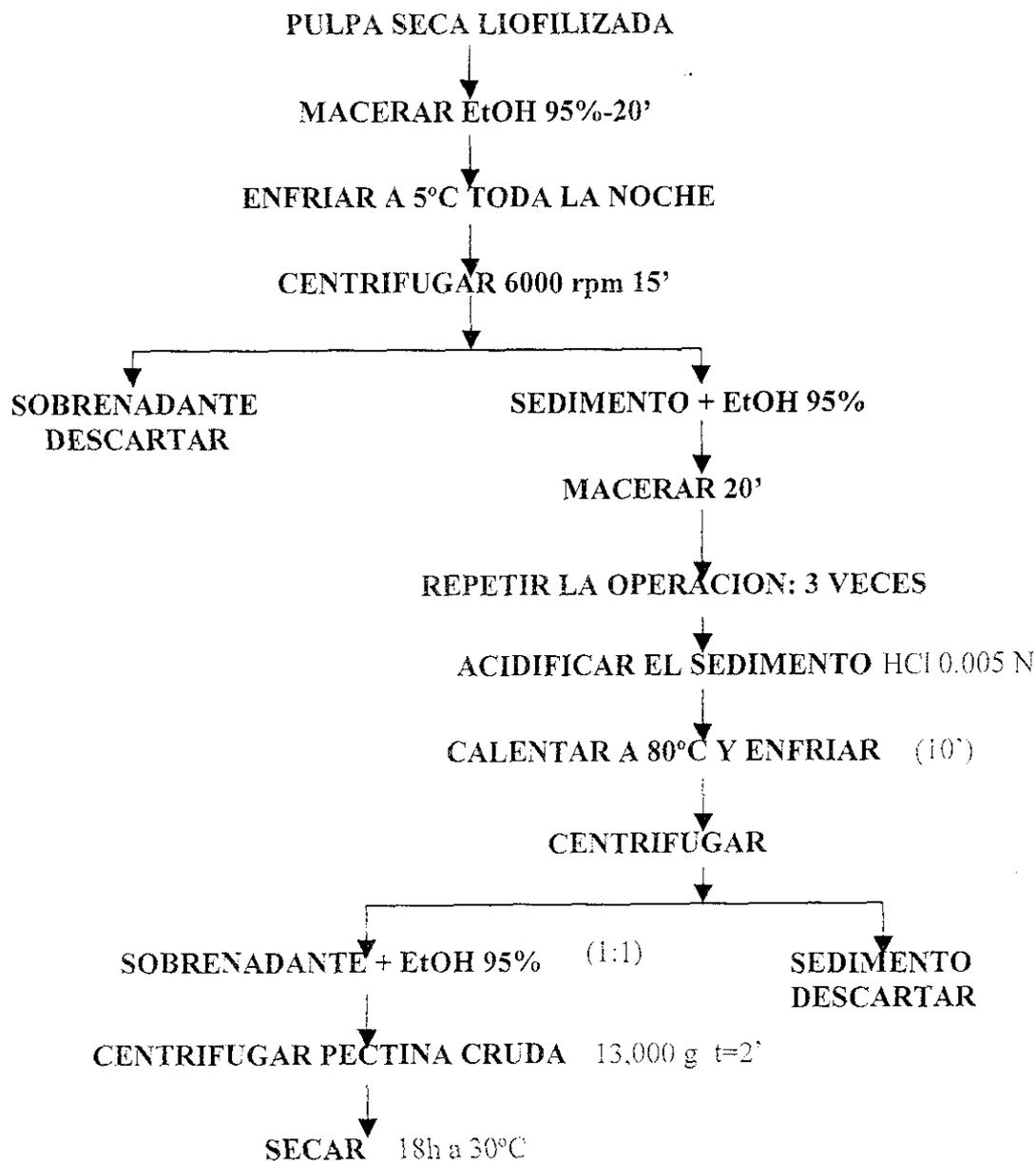
¹⁴² Phatak, L., Chang, K. C and Brown G. Journal of Food Science, 53, [3], 830 – 833, (1988).

¹⁴³ Jhd, M., et al., Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos 32 (2) 185 – 197, (1992).

¹⁴⁴ Lodge N., Nguyen T. T and Mx. Intyre D. Journal of Food Science, 52, [4], 1095 – 1096, (1987).

Como en este método se emplea una gran cantidad de etanol, se procedió también a recuperar etanol y se determinaron los índices de refracción correspondientes de mezclas etanol - agua de tal manera que pudiera cuantificarse la calidad del etanol recuperado, y así decidir si era suficiente la purificación, en caso de que no lo fuera someterlo nuevamente al proceso¹⁴⁵.

DIAGRAMA 4.4.1 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE PECTINA APLICADO A PULPA DE KIWI

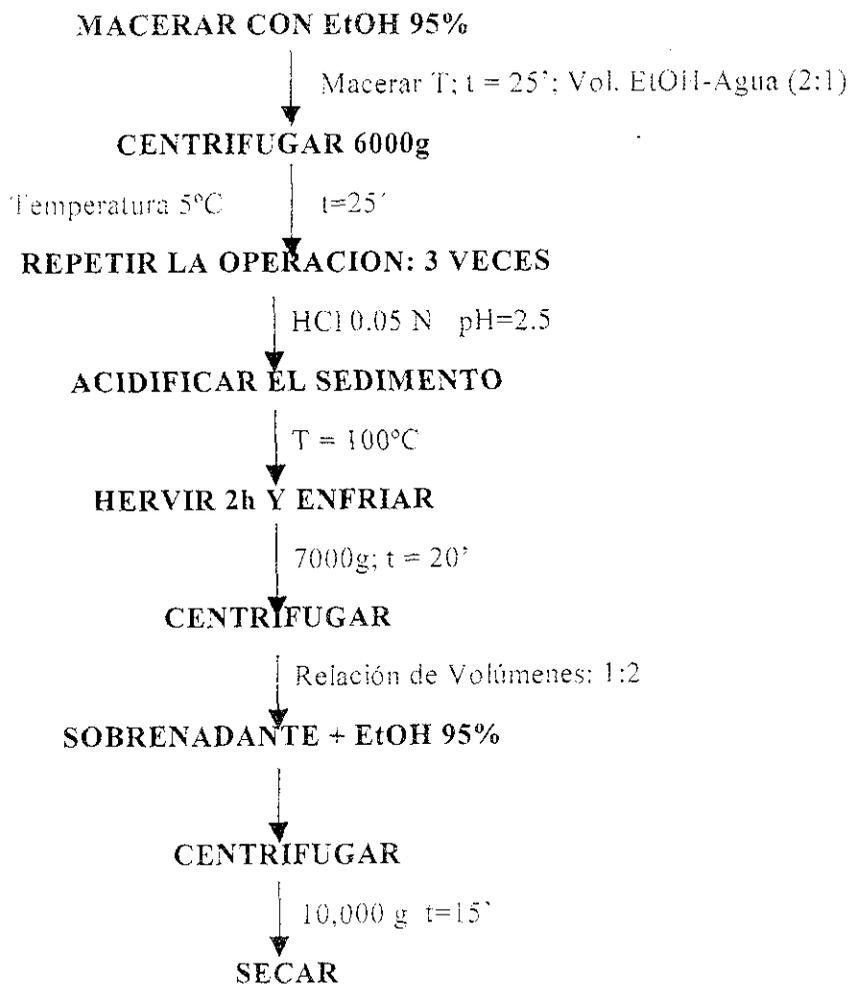


¹⁴⁵ Ver anexo 3.

4.4.2. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN MODIFICADO DEL MÉT. DE KIWI¹⁴⁶.

Después de observar la extracción con el método empleado para Kiwi se decidieron cambiar algunos parámetros, en el diagrama 4.4.2 se muestran dichas modificaciones.

DIAGRAMA 4.4.2 MÉTODO DE EXTRACCIÓN MODIFICADO DEL MÉTODO DE KIWI

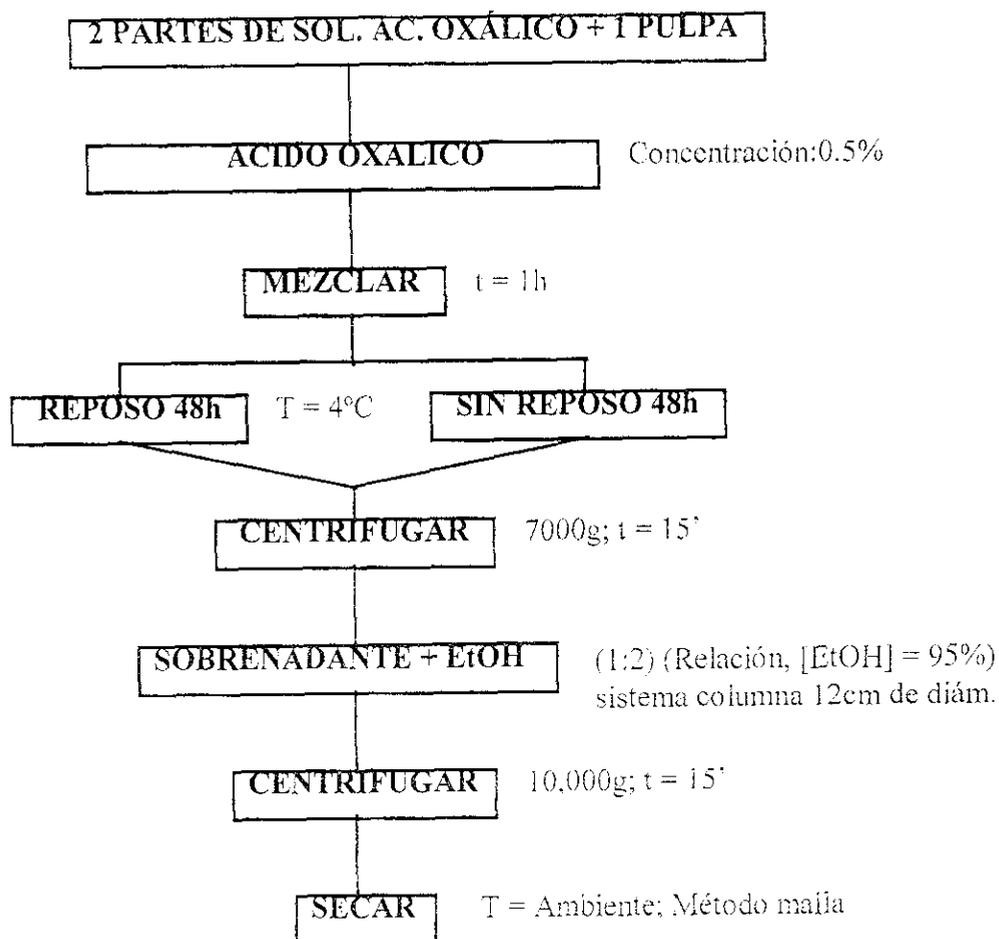


¹⁴⁶ Las modificaciones se efectuaron después de varias corridas experimentales, en donde se optimizaron las condiciones.

4.4.3. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN EMPLEANDO ÁCIDO OXÁLICO¹⁴⁷.

El método emplea al ácido oxálico como agente extractante, el cuál también se empleó para extraer la pectina de la pulpa de tejocote. El diagrama 4.4.3 muestra el procedimiento seguido.

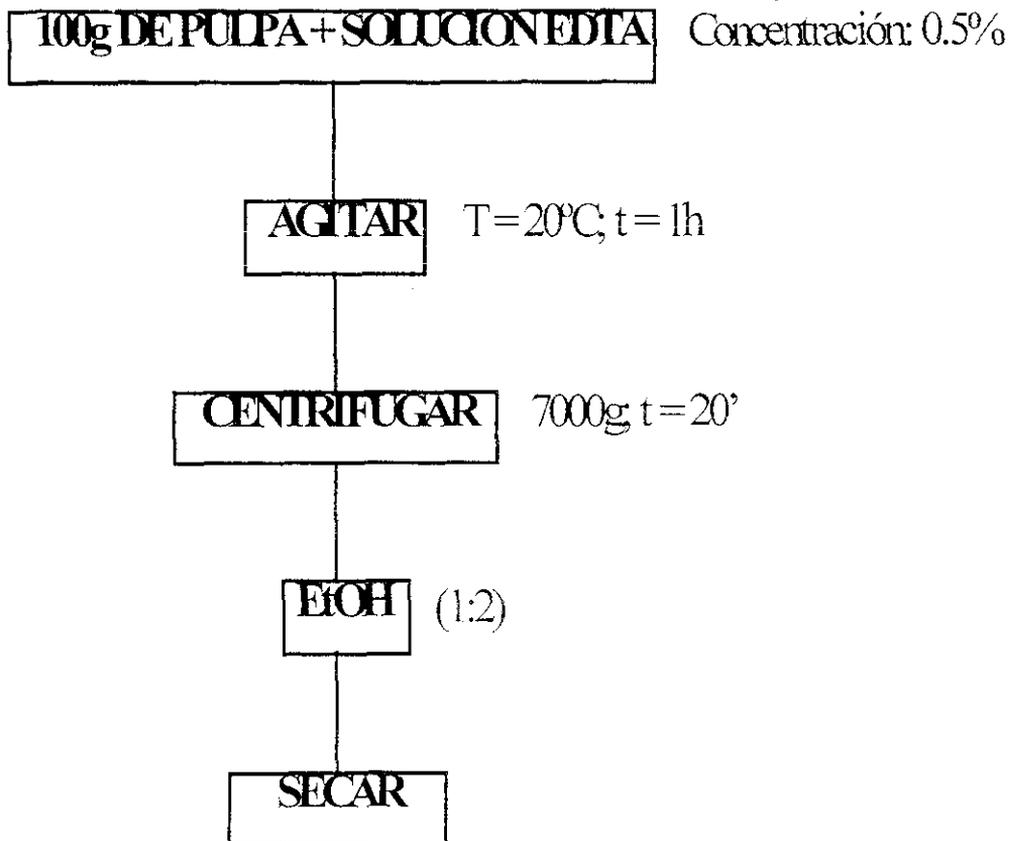
DIAGRAMA 4.4.3 MÉTODO DE EXTRACCIÓN EMPLEANDO ÁCIDO OXÁLICO



¹⁴⁷ Belo P. S andl O. De Lumen B. J. Agric. Food Chem., 29 [2], 370 – 373 (1989). Idem., 28, 1169 – 1174 (1980).

4.4.4 - MÉTODO QUE EMPLEA EDTA COMO AGENTE EXTRACTANTE¹⁴⁸.
En el diagrama 4.4.4 se muestra la metodología empleada para obtener la pectina de la pulpa de tejocote, empleando una solución de EDTA.

DIAGRAMA 4.4.4 MÉTODO DE EXTRACCIÓN EMPLEANDO EDTA

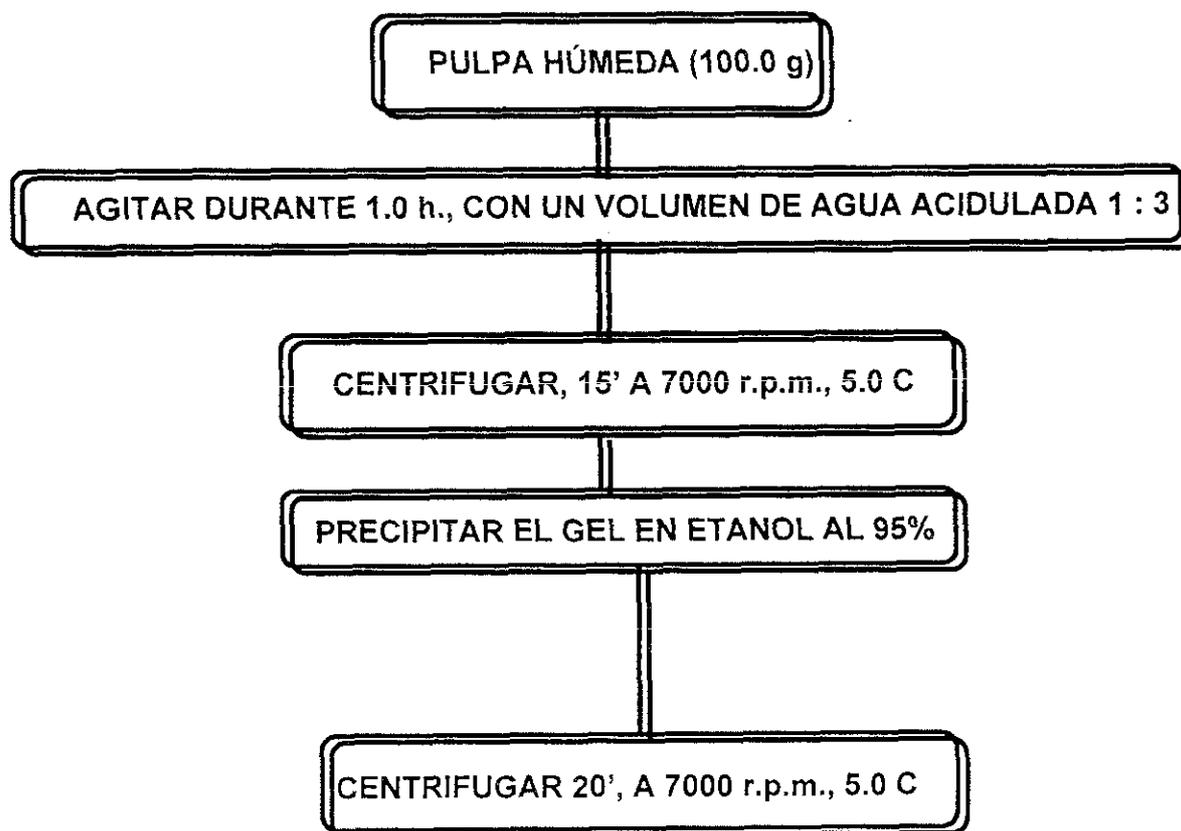


¹⁴⁸ Sajjaanantakul, T., Van Buren J. P and Downing D. L. Journal of Food Science. 54 [5], 1272 – 1277 (1989).

4.4.5. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN ACUOSO.

Basándose en la propiedad de las pectinas de ser solubles en agua se procedió a **innovar** un método sencillo que consiste en la extracción acuosa de la pectina. El método se presenta en el diagrama 4.4.5.

DIAGRAMA 4.4.5 MÉTODO DE EXTRACCIÓN ACUOSO¹⁴⁹

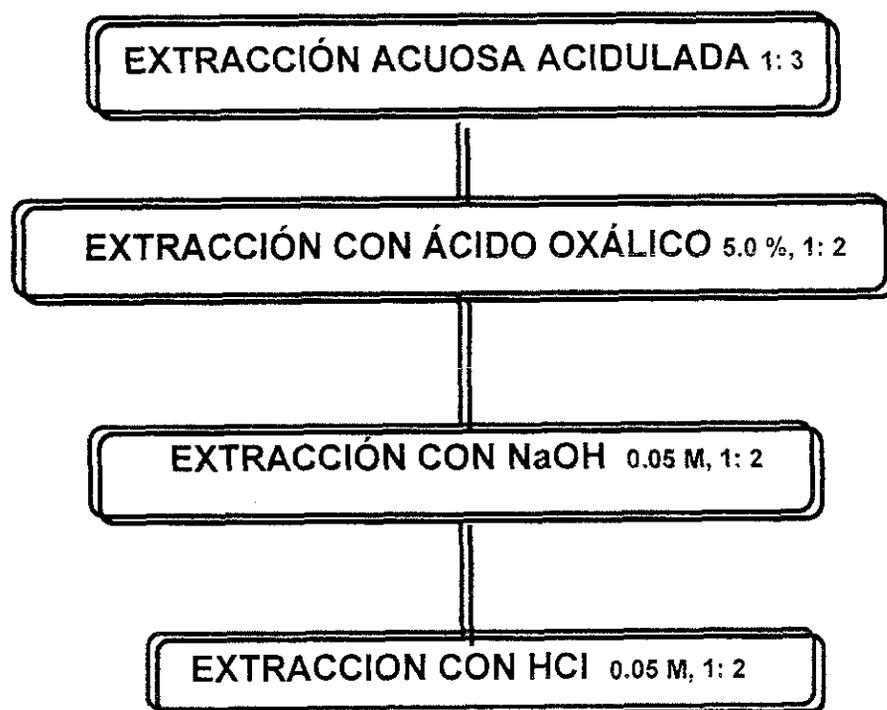


¹⁴⁹ Esta innovación se implementó después de hacer varias observaciones de los diversos métodos y tomando en cuenta las propiedades químicas de la pectina.

4.4.5. - EXTRACCIÓN SECUENCIAL DE LA PECTINA¹⁵⁰.

Después de cada extracción se observó que seguía conteniendo pectina, por lo que se decidió efectuar una extracción secuencial que se muestra en el diagrama 4.4.5.

DIAGRAMA 4.4.5 MÉTODO DE EXTRACCIÓN SECUENCIAL DE PECTINA DE TEJOCOTE

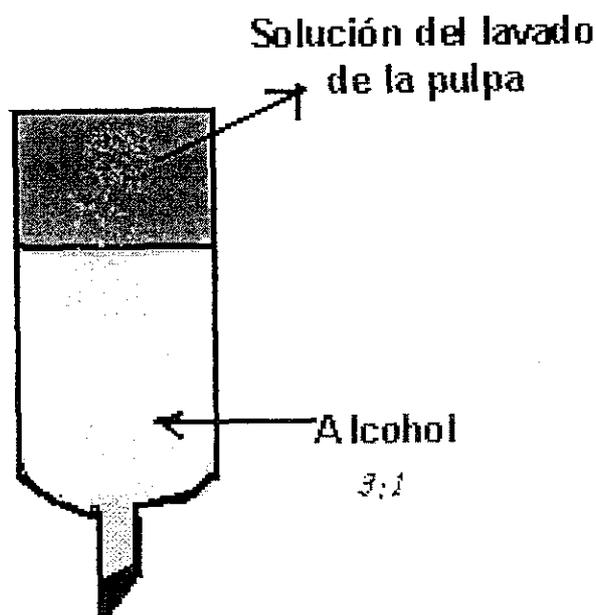


4.4.6. - OBTENCIÓN DEL GEL¹⁵¹.

Se innovó un método para que la pectina gelificara y se limpiara al mismo tiempo. El método consiste en llenar un recipiente, como el que se muestra en la figura 4.4.6, con una solución de etanol al 95.0% e ir agregando el sobrenadante de la última centrifugada de cada método, el gel se forma y se va al fondo. Se deja reposar y el gel va subiendo hasta llegar a la parte superior de la mezcla etanol - agua.

¹⁵⁰ Esta innovación se implementó después de hacer varias observaciones de los diversos métodos y tomando en cuenta las propiedades químicas de la pectina.

¹⁵¹ Idem 158.

FIGURA 4.4.6 EQUIPO EMPLEADO EN LA PRECIPITACIÓN DEL GEL¹⁵²

4.5. - PURIFICACIÓN DE LA PECTINA OBTENIDA

¹⁵³

Esta operación, se llevó a cabo para obtener pectina libre de enzimas o cualquier sustancia que interfiriera en su caracterización. Consistió en redissolver la pectina obtenida en agua desionizada y obtener nuevamente el gel en una solución etanólica al 95.0%, secar nuevamente a temperatura ambiente y moler la película formada.

4.6. - CARACTERIZACIÓN DE PECTINA EXTRAÍDA DE LA PULPA DE TEJOCOTE DE LA VARIEDAD H.

Para efectuar todas las pruebas fisicoquímicas de caracterización se tomó la pectina cítrica como muestra control. La pectina cítrica es una pectina que se extrae de cítricos como el limón o la naranja. Con ésto se pretende comparar los comportamientos y poder llegar a evaluar si las estructuras químicas son similares.

4.6.1. - PUNTO DE FUSIÓN.

Se determinó en un aparato Fisher, con la técnica ya conocida.

¹⁵² El equipo se diseñó y se mandó construir en el taller de vidrio del CINVESTAV y la FES-C.

¹⁵³ Después de la purificación se tomaron las placas cromatográficas para verificar la pureza.

4.6.2. - SOLUBILIDAD.

Se efectuaron las pruebas de solubilidad correspondiente tanto en frío como en caliente, empleando los siguientes disolventes¹⁵⁴: tolueno, tetracloruro de carbono, cloroformo, xileno, acetato de etilo, benceno, hexano, éter de petróleo, ciclohexano, éter etílico, heptano, acetona y metanol.

4.6.3. - CARACTERIZACIÓN QUÍMICA CUALITATIVA.

Para saber si la sustancia obtenida es pectina o hemicelulosa se utilizaron 3 pruebas¹⁵⁵:

- **La prueba del álcali.**- Se disuelve la muestra y se agregan unas gotas de solución al 2.0% de NaOH o KOH, si el color se torna amarillo se trata de sustancias pécticas, la coloración mejora después de 15'.
- **La prueba de gelificación en etanol.**- Todas las sustancias pécticas precipitan si a su solución acuosa se le adicionan 2 volúmenes de etanol, produciendo un gel traslúcido.
- **Formación de color y fluorescencia con KMnO₄.**- Cuando se hierve una mezcla de una solución 0.25% de KMnO₄ con la muestra se obtiene una coloración máлага y una fluorescencia verdosa si se trata de sustancias pécticas.

4.6.4. - CARACTERIZACION POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.

Se empleó un cromatógrafo de Gases Gow-Mac con graficador manual, con una columna polar empacada con un soporte de Cromosorb, tamiz 80/100, de 1/8" de diámetro y 6 ft de largo. Se siguió la siguiente metodología:

- Se abren los tanques de gases: Aire, H₂, N₂ hasta tener una presión manométrica de P = 2.0 Kg (ó 200 lb).
- Se calibran los manómetros adjuntos al aparato para tener una presión de entrada de 2.0 Kg. En el siguiente orden: Primero de N₂, y se enciende el aparato. Ya encendido el aparato, desde el regulador de corriente, se enciende el graficador. Posteriormente se oprime PROGRAM. Con el flujómetro se determina el flujo real del N₂ mL/min. El flujo óptimo es de 25 a 30 mL/min.

PROGRAMAS QUE SE PROBARON:

| PROGRAM A | T _i (C) | t _{dte} (') | R | T _f (C) | t _{dte} (') | t _{er} (') | t _r (') | t _f (') | TI (C) | TD (C) |
|--------------|-----------------------|----------------------|---|--------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------|
| 1 | 30 | 5 | 2 | 100 | 5 | 10-15 | 4 | 10 | 40 | 70 |
| 2 | 20 | 5 | 2 | 20 | 5 | 10-15 | 4 | 10 | 60 | 130 |
| 3 | 20 | 5 | 2 | 50 | 5 | 10-15 | 4 y 5,20 | 10 | 22 | 30 |
| 4 | 30 | 5 | 2 | 50 | 5 | 10-15 | 2.25 | 10 | 30 | 50 |
| 5 | 20 | 5 | 2 | 20 | 5 | 10-15 | 4 | 10 | 60 | 130 |

T_i ⇒ temperatura inicial.

¹⁵⁴ Se trató de emplear solventes para cubrir una amplia gama de polaridades.

¹⁵⁵ Kertesz Z. I. The Pectic Substances. Interscience Publishers, INC., N. Y., pp. 207 - 211. USA (1951).

R ⇒ RAMP ⇒ aumento de temperatura por unidad de tiempo: aumento de 1°/2'.

T_f ⇒ temperatura final.

t_{ef} ⇒ tiempo de estabilización del flujo.

t_r ⇒ tiempo de retención.

t_t ⇒ tiempo total.

TI ⇒ temperatura del inyector.

TD ⇒ temperatura del detector.

Solución de pectina empleada: 0.4 mg/mL.

Previamente se acondicionó y limpió la columna a una temperatura de 200 C. Se inyectaron los siguientes disolventes en el orden en el que se mencionan: Agua, Metanol, Etanol, Mezcla 1:1, etanol - agua.

4.6.5. - CARACTERIZACION POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN¹⁵⁶.

Con esta caracterización se encontraron el número de fracciones contenidas en cada muestra de pectina así como los pesos moleculares de dichas fracciones.

El equipo empleado fue un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución marca LDC Analytical; con una columna TSK-GEL G5000 PWXL 10.0 μ de 30 cm de largo por 7.8 mm de diámetro marca TOSO-HAAS. La fase móvil fue agua y se empleó una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. El Detector es un LDC Analytical UV y la longitud de onda empleada fue la de máxima absorción de las pectinas: 192 nm. La cantidad de muestra inyectada fue de 20 μl.

Para determinar los pesos moleculares de las fracciones se construyó una curva de calibración empleando los siguientes estándares:

| ESTANDARES. | PESO MOLECULAR (DALTONES ¹⁵⁷) |
|--------------------------|---|
| Agregado proteico | 900,000 |
| Tiroglobulina de bovino | 670,000 |
| Gamaglobulina | 158,000 |
| Ovalglobulina de caballo | 17,000 |
| Vitamina B-12 | 1,300 |

4.6.6. - CARACTERIZACIÓN VOLUMÉTRICA¹⁵⁸.

Con esta caracterización se determinan el peso equivalente, el porcentaje de grupos metoxilos y el porcentaje de ácido anhidourónico de las muestras de pectina. Cabe recordar que se empleó la pectina cítrica como control. Las determinaciones se hicieron de la siguiente manera:

¹⁵⁶ La metodología para la determinación fue implementada.

¹⁵⁷ Un Dalton es la masa de un átomo de hidrógeno = 1.67 x 10⁻²⁴ g.

¹⁵⁸ Se modificaron las condiciones, reportadas en la literatura, para las determinaciones.

- **Determinación de peso equivalente.**- El peso equivalente corresponde al número de unidades de ácido galacturónico contenido en la molécula. La literatura propone que se valoren 0.5 g de pectina disuelta en 100 mL de agua libre de CO₂, se adiciona 1.0 g de NaCl y 6 gotas de rojo de fenol, con una solución 0.1 N de NaOH. Después de realizar algunas observaciones previas se decidió modificar la técnica: se emplearon como indicadores la fenoftaleína y un potenciómetro. Se elaboran las curvas de valoración, se obtienen los volúmenes de equivalencia y se calcula el peso equivalente empleando la siguiente igualdad:

$$PE = [\text{peso de la muestra en g}/(\text{vol. del álcali}) (\text{normalidad del álcali})] \times 1000.$$

- **Determinación del porcentaje de grupos metoxilo**¹⁵⁹. Se refiere al número de grupos carboxilo que contiene la molécula esterificados con metanol o con etanol. El método se basa en la neutralización de los grupos carboxilo con NaOH 0.1 N en presencia de un indicador ácido base, proponen rojo de fenol, agregando inmediatamente un exceso medido de NaOH 0.25 N para saponificar los grupos -COOCH₃, procediendo a valorar el exceso de NaOH. A la valoración anterior para determinar peso equivalente, se adicionan 25.0 mL de NaOH 0.25 N, agita vigorosamente a temperatura ambiente. Se deja reposar 30.0 '. Posteriormente se añaden 25.0 mL de HCl 0.25 N y se valora el exceso de ácido con NaOH 0.1 N.

Después de realizar la observación previa correspondiente se procede a modificar la técnica: se emplean como indicadores fenoftaleína y un potenciómetro, se añaden 30.0 mL de una solución de NaOH 0.1 N y agita y se dejan reposar durante 1.0 hora y ya no se valora por retroceso sino solamente el exceso de NaOH empleada y se emplean para comparar 2 ácidos HCl 0.1 N y H₂SO₄ 0.05 N.

Se elaboran las curvas de calibración correspondientes para obtener el volumen de equivalencia y se calcula el porcentaje de grupos metoxilo mediante la siguiente relación:

$$\%MeO = (\text{meq. de NaOH}) (31 \times 100)/\text{peso de la muestra en mg}$$

- **Determinación del porcentaje de ácido anhidrourónico**¹⁶⁰. La determinación se hace empleando los resultados obtenidos en las dos determinaciones anteriores de acuerdo con la siguiente relación:

$$\%AAU = 176 (\text{meq de sosa empleados en la determinación de \% MeO} + \text{meq de sosa empleados en la determinación de PE}) (100)/ \text{peso de la muestra en mg}$$

¹⁵⁹ Kertesz Z. I. The Pectic Substances. Interscience Publishers, INC., N. Y., pp. 230 – 233, USA (1951). Ihi M., Astete G y Bifani V. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim. 32 (2), 185 – 197 (1992).

¹⁶⁰ Nota.- todas las soluciones empleadas fueron previamente valoradas con patrones primarios como el Na₂CO₃ y ftalato ácido de potasio.

4.6.7. - CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA¹⁶¹.

- Se obtuvieron los espectros de UV, IR y RMNH' de las muestras tanto de pectina cítrica como de la pectina de tejocote extraída por el método acuoso.

4.6.8. - CARACTERIZACIÓN ESPECTROMÉTRICA.

Todas las sustancias extraídas de productos naturales vienen acompañadas de iones inorgánicos presentes en éste, en el caso de las pectinas no es diferente y con esta caracterización se pretende determinar el contenido de iones inorgánicos presentes mediante el método de ICP¹⁶².

Para la determinación se empleó un espectrómetro ICP-AES marca VARIAN, con monocromador Czerny-Turner de 75 mm, purgado al vacío con 4 grados de difracción y que emplea Argón para formar el plasma.

Las soluciones empleadas para las determinaciones son:

1. Pectina cítrica 0.0512 g/100ml.
2. Pectina de tejocote 0.1440 g/100ml. Para ambos métodos de extracción acuoso y oxálico.

Las soluciones estándar, empleadas son:

| ELEMENTO | Conc. (ppm) | ELEMENTO | Conc. (ppm) |
|----------|-------------|----------|-------------|
| Al | 10.2270 | Fe | 1.9957 |
| As | 1.8352 | D | 94.3500 |
| Be | 1.9998 | Mn | 2.0509 |
| Ca | 97.3000 | Ni | 2.0370 |
| Cd | 0.5050 | Pb | 1.9963 |
| Cr | 1.0000 | Zn | 1.9529 |
| Cu | 2.0492 | | |

4.6.9. - CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA¹⁶³.

Con la caracterización reológica se determinaron las propiedades viscoelásticas de las soluciones de pectinas cítrica y de tejocote extraída por el método acuoso. Después de efectuar varias observaciones previas con soluciones de diferente concentración se decidió trabajar con soluciones al 1.0% p/v.

Para medir las propiedades como viscosidad, esfuerzo cortante, G' y G'' , entre otras se utilizó un reómetro marca HAAKE RT20 con un sensor Z-20 DIN.

¹⁶¹ Iñi M., Astete G y Bifani V. Rev. Esp. Cienc. Tenol. Alim. 32 (2), 185 – 197 (1992).

¹⁶² Inductively Coupled Plasma.

¹⁶³ Metodología implementada en el laboratorio de Reología de alimentos.

Las condiciones experimentales empleadas se muestran en la Tabla 4.6.9:

TABLA 4.6.9 CONDICIONES EXPERIMENTALES EMPLEADAS EN LA CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE SOLUCIONES DE PECTINA CÍTRICA Y PECTINA DE TEJOCOTE AL 1.0%

| SEGMENTO | EXPERIMENTO | ESFUERZO CORTANTE (τ)/ VELOCIDAD DE FLUJO ($\dot{\gamma}$) | FRECUENCIA (Hz) | T (C) | t (S) |
|----------|-----------------------------------|--|--------------------|----------|----------|
| 1 | BARRIDO DE ESFUERZO | 15.0 - 150.0 Pa | 1.00 | 25.0 | |
| 2 | BARRIDO DE FRECUENCIA ASCENDENTE | 20.0 Pa | 0.01 - 10.0 | 25.0 | |
| 3 | BARRIDO DE FRECUENCIA DESCENDENTE | 20.0 Pa | 10.0 - 0.01 | 25.0 | |
| 4 | REOGRAMA DE EQUILIBRIO | 4.0 - 100.0 Pa | - | 25.0 | |
| 5 | CURVA DE FLUJO ASCENDENTE | 1.0 - 500.0 s ⁻¹ | - | 25.0 | |
| 6 | TIEMPO | 500.0 s ⁻¹ | - | 25.0 | 60 |
| 7 | CURVA DE FLUJO DESCENDENTE | 500.0 - 1.0 s ⁻¹ | - | | |
| 8 | CURVA DE FLUJO DESCENDENTE | 500.0 - 1.0 s ⁻¹ | | | |

4.6.10. – ANÁLISIS ELEMENTAL¹⁶⁴

Se llevó a cabo el análisis elemental orgánico de las pectinas de tejocote y citrica, en donde se determinó contenido de los elementos: C, O, N, S y halógenos.

También se determinaron grupos funcionales existentes en cada una de las pectinas.

4.7. – ANÁLISIS ECONÓMICO¹⁶⁵

Se llevó a cabo el análisis económico de algunos procesos de extracción. Se investigaron los precios y se calcularon las cantidades de pulpa de tejocote, material y reactivos y costos para obtener 500 g de pectina. Al costo final se le añadió un 15.0% de mano de obra e insumos de gastos menores.

Cabe mencionar que los precios recabados son todavía para trabajo en laboratorio, a nivel industrial los costos se abaten notablemente. Los precios para trabajar a escala industrial se solicitan anexando los cálculos para obtener toneladas del producto deseado.

¹⁶⁴ Shriner R. L., Fuson R. C y Curtin D. Y. Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. Ed. Limusa. México (1974). Fieser and Williamson. Organic Experimentes. 3ª Ed. p 369. Pruebas a la gota en Análisis Orgánico.

¹⁶⁵ Fuentes: SECOFI, SISTEMA NACIONAL DE INFORMACIÓN E INTEGRACIÓN DE MERCADOS. Distribuidores Representación Ultralab de Reactivos Monterrey. Química Delta, de solventes.

5. RESULTADOS, SU ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Los resultados, así como su análisis y discusión se presentan en el orden en el que se llevó a cabo el desarrollo experimental.

5.1. - ESCALDADO, DESPULPADO Y CONSERVACION DEL FRUTO.

Las condiciones empleadas son adecuadas para las tres operaciones: el escaldado es satisfactorio, se obtuvo el tejocote sin ningún vestigio de cáscara y quedó listo para despulparlo de manera manual y efectuar la conservación, la cual es efectiva, ya que la pulpa se mantuvo en perfectas condiciones durante toda la experimentación.

- 1) El empleo de agua caliente en el proceso de escaldado del fruto fue suficiente para lograr los propósitos deseados. El no emplear soluciones diluidas de NaOH u otras recomendadas en la literatura evita tener que recurrir a una instrumentación más compleja en los procesos de escaldado y despulpado, además previene reacciones químicas indeseables con la pectina extraída.
- 2) El empleo de soluciones de sulfito de sodio y benzoato de sodio al 0.02% junto con el proceso de refrigeración a temperaturas de -4.0 C , dieron como resultado una buena conservación de la pulpa de tejocote.

5.2. - SECADO DE LA PULPA Y DE LA PECTINA.

En la tabla 5.2.1 se muestran los resultados de los métodos de secado empleados:

TABLA 5.2.1 MÉTODOS DE SECADO

| MÉTODO DE SECADO | OBSERVACIONES |
|---|---|
| 1. CONVENCIONAL PARA LA PULPA | A pesar de los antioxidantes con los que se conserva la muestra, la pulpa se oscurece. Necesita mucho tiempo para secarse. |
| 2. EN CORRIENTE DE AIRE PARA LA PULPA | Idem. |
| 3. CALENTAMIENTO A BANO MARÍA PARA LA PULPA | No se seca. |
| 4. EN HORNO DE MICROONDAS PARA LA PULPA | El tiempo óptimo de secado en placa es de 2' 30". Este secado afecta el contenido de pectina, pues el rendimiento de su extracción en la pulpa así secada fue en promedio del 1.0%. |
| 5. EN UN CALENTADOR SOLAR Dimensiones 1.0 m X 0.40 m PARA PULPA Y PECTINA | Las muestras se enmohecen, no se tuvieron las condiciones necesarias, había mucha tierra y no se podía sacar el calentador cuando existían corrientes |

| | |
|---|---|
| | fuertes de aire. Además se sobresaturó éste. |
| 6. EN MALLAS DE PLÁSTICO A TEMPERATURA AMBIENTE PARA PECTINA | El secado es óptimo. El tiempo promedio para es de 24.0 h. La humedad que se encontró en la pectina fue en promedio entre el 6.0 y el 7.0%. |

5.2.1. - DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE SECADO EMPLEANDO EL MÉTODO DE HORNO DE MICROONDAS¹⁶⁶.

La tabla 5.2.2 muestra los tiempos de secado, indicando el tiempo óptimo de secado de la pulpa de tejocote de la variedad H cuando se emplean cajas de Petri como portadoras de la muestra y 20.0 g de la pulpa fresca.

TABLA 5.2.2 TIEMPO DE SECADO

| TIEMPO | OBSERVACIONES |
|--------|--|
| 2' 15" | La pulpa no se secó. |
| 2' 25" | La pulpa sigue húmeda. |
| 2' 30" | La pulpa se encuentra en mejor estado después del secado, se abre las placas y se deja reposar a temperatura ambiente. Este tiempo de secado es el óptimo . |
| 2' 40" | La pulpa se secó pero se incrustó la pulpa en el cristal. La operación de desprendimiento fue muy difícil. |
| 2' 50" | Idem. |
| 3' 10" | La pulpa se obscureció. |
| 5' 00" | La pulpa se quema. |

En la tabla 5.2.3 se muestra la cantidad de pulpa que puede secarse en placas de 20 x 20 cm y 5.0 mm de grosor y el tiempo necesario para ello:

TABLA 5.2.3 CANTIDAD DE PULPA Y TIEMPO DE SECADO

| AREA DE LAS BASES DE VIDRIO, EN cm ² . | MASA MÁXIMA DE PULPA SECADA EN g. | TIEMPO DE SECADO |
|---|-----------------------------------|------------------|
| Cajas Petri de radio 9.5 cm: 70.88 | 20.0000 | 2' 30" |
| Placas vidrio de 5 mm de espesor: 380.25 | 107.2940 | 13' 41" |

La tabla 5.2.4 muestra la comparación de la temperatura del horno de microondas calculada teóricamente y la experimental determinada por un termopar HOOKE DT20.

¹⁶⁶ Ver anexo 1.

TABLA 5.2.4 TEMPERATURA DEL HORNO

| TEMPERATURA DEL HORNO, C | TEMPERATURA DE LAS PLACAS, C | TIEMPO DE CALENTAMIENTO (MINUTOS) |
|--------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| TEORICA: 32.11 | | |
| 33.00 | 35.20 | 1.0 |
| 37.50 | 61.80 | 12.0 |
| 39.00 | 75.00 | 14.0 |

En todos los casos de secado en horno de microondas, la pérdida de agua fue en promedio del 74.00%.

- 1) El mejor proceso de secado de la pulpa es la liofilización. Al no contar con una liofilizadora y al no encontrar un método apropiado para secar la pulpa sin que sufra ninguna modificación física o química como se muestra en las tablas 5.2.1 y 5.2.2, se procedió a realizar la extracción de pectina a partir de la pulpa húmeda.
- 2) En general el método de secado por microondas afecta a todos los alimentos en cuanto al contenido de carbohidratos y de proteínas. El método de secado de la pulpa de tejocote empleando el horno de microondas afecta el contenido de pectina de la pulpa. Se determinaron el tiempo de secado por este método de la pulpa que es de 2 minutos 30 segundos y la cantidad de pulpa de tejocote que puede secarse tanto en una caja Petri como en placas de vidrio de 20 x 20 cm, como se indicó en las tablas 5.2.2 y 5.2.3.
- 3) Al comparar varios métodos de secado de la pectina extraída de la pulpa de tejocote se encontró que el mejor es el secado en mallas de plástico a temperatura de 24.0 C. La pectina secada de esta manera no se altera en color, consistencia y propiedades fisicoquímicas, como se indicó en la tabla 5.2.1.

5.3. - ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA PULPA Y LA PECTINA DE TEJOCOTE.

Se presentan los resultados del análisis bromatológico efectuado tanto a la pulpa como a la pectina extraída en las tablas 5.3.1 y 5.3.2. Los valores son promedio de 10 determinaciones.

TABLA 5.3.1 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA PULPA

| DETERMINACIÓN | VALORES |
|----------------------------|---------|
| % Humedad (P. Liofilizada) | 10.35 |
| % Humedad (Pulpa Fresca) | 86.80 |
| % Cenizas | 2.16 |
| % Proteínas | 1.16 |
| % Grasas | 14.4 |
| % Fibra Cruda | 10.87 |

TABLA 5.3.2 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE PECTINA

| DETERMINACION | VALORES | S (STD) |
|---------------|---------|---------|
| % Humedad | 12.9 | 0.70 |
| % Cenizas | 4.55 | 0.39 |
| % Proteínas | 3.1 | 1.00 |
| % Grasas | 1.79 | 0.25 |

Pectina extraída por método de Kiwi.

En la tabla 5.3.3 se presentan los resultados de humedad y cenizas de pectina de tejocote extraída por el método acuoso, de la pectina cítrica comercial y de la pectina cítrica marca Sigma.

TABLA 5.3.3 ANALISIS COMPARATIVO

| PECTINA | % DE HUMEDAD | % DE CENIZAS |
|---------------------|--------------|--------------|
| TEJOCOTE | 6.92 | 3.72 |
| CÍTRICA | 7.09 | 2.81 |
| CITRICA MARCA SIGMA | 2.47 | 3.98 |

- 1) Los análisis bromatológicos, tanto de la pulpa de tejocote como de la pectina, mostrados en las tablas 5.3.1, 5.3.2 y 5.3.3 no difieren en gran medida de los reportados por el Instituto Nacional de Nutrición y otros estudios mostrados en las tablas de la 3.1.4.2 a la 3.1.4.5. Aunque con respecto a la pectina el porcentaje que ellos reportan es del 3.5 % y los resultados que se encontraron experimentalmente si difieren en gran medida porque fluctúan entre el 1.0 hasta el 18.0% dependiendo del método de extracción.
- 2) Respecto a la tabla 5.3.3 podemos decir que la humedad de la pectina que se obtiene de tejocote se compara con la cítrica comercial, sin embargo respecto a las cenizas, que indican el material inorgánico que contiene la muestra, es más semejante a la pectina de marca sigma, por lo que la pectina de tejocote obtenida se compara en estos aspectos bromatológicos con la pectina cítrica.

5.4. - EXTRACCIÓN DE PECTINA A PARTIR DE PULPA DE TEJOCOTE.

5.4.1. - RESULTADO DE LA EXTRACCIÓN DE PECTINA EMPLEANDO EL MÉTODO REPORTADO PARA PULPA DE BETABEL.

El tiempo que se emplea es muy largo y no contamos con la membrana adecuada para efectuar la diálisis, ya que en los experimentos realizados se observó que no existió separación entre la pectina y otros carbohidratos.

Además el método somete a la pulpa a condiciones drásticas de operación y por tanto, no se obtienen buenos resultados (rendimientos menores del 1.0%).

5.4.2. - EXTRACCIÓN EMPLEANDO EL MÉTODO KIWI.

Se realizó la observación previa correspondiente, empleando el método tal como está reportado en el artículo original y no se pudo cuantificar la pectina obtenida, fue mínima.

Se modificó el método ahora variando los siguientes parámetros: el tiempo de calentamiento (con reflujo): 30', el tiempo de centrifugación de 2' por 15'. El tiempo de secado 18.0 h y la temperatura de la estufa de vacío 30.0 C. Como la pectina obtenida en el primer ensayo fue de color café, se varió la temperatura a 20.0 C. En la tabla 5.4.2 observamos los primeros resultados de esta técnica.

TABLA 5.4.2 EXTRACCIÓN DE PECTINA EMPLEANDO EL MÉTODO EMPLEADO EN LA PULPA DE KIWI

| Observaciones | Peso de Pectina Seca (g) |
|---------------|--------------------------|
| Muestra 1 | 0.3540 |
| Muestra 2 | 0.3320 |
| Muestra 3 | 0.3043 |

Rendimiento promedio: 6.6%

El peso de las tres muestras fue de 4.9999 g de pulpa liofilizada. Como el volumen de etanol empleado, para la precipitación del gel, es muy grande, se procedió a modificar la concentración de HCl de 0.005N a 0.05N, empleándose ahora 10 veces menos ácido para tener pH = 2.5 y por tanto 10 veces menos gasto de alcohol en la precipitación. Aún así el volumen de etanol es considerable y se procedió a modificar el método y a buscar otros métodos más rentables.

El secado en la estufa de vacío tampoco fue óptimo a 30.0 C durante 18.0 h, la pectina se ponía muy café y el etanol no se evapora completamente. Se manejaron otros parámetros como la temperatura a 20.0 C y el tiempo de secado de 20.0 h la pectina resultante es de color naranja y el etanol tampoco se evaporó.

5.4.3. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN MODIFICACIÓN DEL MÉTODO DE KIWI.

La tabla 5.4.3.1 muestra el rendimiento de obtención de pectina con las nuevas condiciones, pero empleando ahora pulpa que había sido secada mediante el horno de microondas; el primer resultado es promedio de 10 medidas.

El cambio de condiciones se decidió porque en el método tal como se reporta en la literatura no se pudo evaluar la pectina extraída debido a la cantidad mínima que se obtuvo. Las condiciones que se cambiaron son: en la primera técnica decía macerar 20' y dejar reposar toda la noche, se omite el reposo y se macera durante 25.0', 3 veces.

En la 1ª centrifugación la técnica no dice la temperatura e indica 15.0' lo que se modifica tomando una temperatura de 5.0 C y un tiempo de 25.0', se repite después de cada maceración.

En la acidificación se emplea HCl 0.05N en vez de 0.005, ya se mencionó que el objetivo es reducir el volumen de alcohol empleado cuando se gelifica la pectina, en el calentamiento a 80.0 C por 10.0' se cambio por un reflujo de 2.0 h a 100.0 C para poder desprender la pectina de las paredes celulares, sin embargo aquí se observó también que el rendimiento de la pectina era bajo.

En la 2ª centrifugación se modificó de 6000g, 15.0' a 7000g durante 20.0'. En la 3ª centrifugación se cambio de 13000g por 2.0' a 10000g por 15.0'.

TABLA 5.4.3.1 RENDIMIENTO DE PECTINA

| PESO DE PULPA (g) | PESO DE PECTINA SECA (g) | % RENDIMIENTO |
|-------------------|--------------------------|---------------|
| 16.5 | 0.1505 g | 0.9121 |
| 5.3263 | 0.0529 g | 1.0 |
| 7.8426 | 0.0861 g | 1.1 |
| 10.2547 | 0.0974 g | 0.95 |
| 4.1764 | 0.0426 | 1.02 |
| 4.7460 | 0.0431 | 0.91 |
| 4.8622 | 0.0456 | 0.93 |

MÉTODO MODIFICADO PARA KIWÍ EN PULPA SECADA EN HORNO DE MICROONDAS.

Empleando este método la cantidad de etanol gastada sigue siendo muy considerable, por lo que se procede a recuperar el etanol ($P_{eb}=72.0$ C). Para comparar el grado de pureza de éste, se construyó una curva de calibración determinando el índice de refracción de las mezclas alcohol - agua, ver anexo 3.

En la tabla 5.4.3.2 se muestran los resultados obtenidos después de aplicar este método para la obtención de pectina a partir de pulpa fresca de tejocote.

TABLA 5.4.3.2 RESULTADOS DE LA EXTRACCION DE PECTINA

| PESO DE PECTINA SECA (g) | % RENDIMIENTO | OBSERVACIONES |
|--------------------------|---------------|--|
| 0.7116 | 4.33 | SE OBTIENE UNA PECTINA DE COLOR CAFÉ |
| 1.4383 | 8.77 | |
| 1.4006 | 8.54 | |
| 1.1898 | 7.25 | |

El peso de la pulpa fresca empleada en todos los casos es de 16.4 g. Método modificado de Kiwi.

5.4.4. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN EMPLEANDO ÁCIDO OXÁLICO.

En la tabla 5.4.4 se muestran los resultados obtenidos después de aplicar este método para la obtención de pectina a partir de pulpa fresca de tejocote. Los experimentos se realizaron empleando 2 concentraciones de ácido oxálico de 5.0% y de 0.5%. La concentración óptima para la extracción es de 0.5%.

TABLA 5.4.4 EXTRACCIÓN DE PECTINA CON ÁCIDO OXÁLICO

| PESO DE PECTINA SECA (g) | % RENDIMIENTO | OBSERVACIONES |
|--------------------------|---------------|--|
| 1.8586 | 11.28 | SE OBTIENE UNA PECTINA DE COLOR ANARANJADO |
| 2.2795 | 13.89 | |
| 2.2340 | 13.62 | |
| 2.1832 | 13.31 | |
| 2.4647 | 15.02 | |
| 2.5200 | 15.36 | |
| 2.9014 | 17.69 | |
| 2.6975 | 16.44 | |
| 3.0270 | 18.45 | |
| 3.1645 | 19.29 | |
| 2.3022 | 14.03 | |

Condiciones del método: concentración del ácido oxálico 0.5%, volumen empleado 200.0 mL, el peso de la pulpa empleada en todos los casos es de 16.4000 g.

5.4.5. - MÉTODO DE EXTRACCIÓN EMPLEANDO EDTA.

En la tabla 5.4.5 se muestran los resultados obtenidos después de aplicar este método para la obtención de pectina a partir de pulpa fresca de tejocote.

También en este método se emplearon varias concentraciones de EDTA. La óptima fue 0.5%.

TABLA 5.4.5 RESULTADOS DE LA EXTRACCIÓN DE PECTINA EMPLEANDO EDTA COMO MEDIO EXTRACTANTE

| PESO DE PECTINA SECA (g) | % RENDIMIENTO | OBSERVACIONES |
|--------------------------|---------------|--|
| 1.5553 | 9.48 | SE OBTIENE UNA PECTINA DE COLOR AMARILLO CLARO |
| 0.5068 | 3.09 | |
| 0.4772 | 2.90 | |
| 0.8565 | 5.22 | |
| 0.5397 | 3.29 | |

Condiciones del método: concentración del EDTA 0.5%, volumen empleado 200.0 mL, el peso de la pulpa empleada en todos los casos es de 16.4 g.

5.4.6. – EXTRACCIÓN DE PECTINA MEDIANTE EL METODO ACUOSO.

En la tabla 5.4.6 se presentan los resultados de este método desarrollado en este trabajo y que no se encuentra reportado en la literatura:

TABLA 5.4.6 EXTRACCIÓN DE PECTINA POR EL METODO ACUOSO

| PESO DE PECTINA SECA (g) | % RENDIMIENTO | OBSERVACIONES |
|--------------------------|---------------|--|
| 1.2280 | 7.4800 | SE OBTIENE PECTINA DE COLOR BEIGE CLARO |
| 1.1969 | 7.2900 | |
| 1.2085 | 7.3600 | |
| 1.1394 | 6.9400 | |
| 1.1914 | 7.2600 | |
| 1.0425 | 6.3560 | |
| 1.0614 | 6.4870 | |
| 0.8602 | 5.2450 | |
| 1.2866 | 7.8450 | |
| 1.3355 | 8.1430 | |
| PROMEDIO | 7.0406 | |

El método es muy sencillo, se basa en la propiedad fundamental de las pectinas que es su solubilidad en agua ligeramente acidulada.

5.4.7. – EXTRACCIÓN SECUENCIAL DE PECTINA DE TEJOCOTE

En la tabla 5.4.7.1 se muestran los resultados de la extracción de pectina en forma secuencial empleando los métodos mencionados:

TABLA 5.4.7.1 EXTRACCIÓN SECUENCIAL DE PECTINA

| MÉTODO | % η |
|-----------|---------------|
| ACUOSO | 10.17 Y 10.05 |
| AC. OXAL. | 4.14 Y 9.0 |
| NaOH | 2.67 Y 0.04 |
| HCl | 1.66 Y 0.53 |
| TOTAL | 18.64 Y 19.62 |

Los valores reportados en la tabla son promedio de 20 extracciones, 10 empleando ácido oxálico al 5.0% y 10 con ácido oxálico al 0.5%.

La tabla 5.4.7.2 presenta los resultados de la observación previa de cada método empleado para la extracción de pectina de la pulpa de tejocote de la variedad H:

TABLA 5.4.7.2 OBSERVACIÓN PREVIA DE LOS MÉTODOS

| SOLUCION EXTRACTORA | RENDIMIENTO (%) |
|------------------------|-----------------|
| Acido oxálico al 0.5 % | 15.0 |
| Acido oxálico al 5.0 % | 3.0 |
| HCl | 1.0 |
| Acuoso | 7.0 |
| NaOH | 2.0 |

Valores promedio de 3 extracciones.

- 1) En las tablas desde la 5.4.2 hasta la 5.4.7.2 se muestra que la extracción de pectina de la pulpa de tejocote se llevó a cabo por diferentes métodos y en cada uno de ellos se obtuvieron rendimientos diferentes: a) el aplicado a pulpa de Kiwi con un rendimiento entre el 1.0 y el 1.66%, b) el método Kiwi modificado con un rendimiento entre el 7.0 y el 9.0 %, c) el método oxálico en donde se empleó una solución de ácido oxálico como agente extractante y se obtuvo un rendimiento entre el 13.0 y el 18.0%, para soluciones 0.5% d) el método EDTA, en donde se empleó una solución de EDTA al 0.5% como agente extractor, obteniéndose rendimientos entre el 3.0 y el 9.0%, e) el método acuoso en con el cuál se obtiene un rendimiento entre el 7.0 y el 10.0%, f) y un método secuencial (extrayendo la pectina primero con agua ligeramente acidulada, luego con solución de ácido oxálico al 5.0%, después con solución de HCl 0.05N y finalmente con NaOH 0.05N) en donde en promedio se obtuvo un rendimiento del 18.64% y de 19.62% cuando se emplea solución de ácido oxálico al 0.5%; esta secuencia es mejor que la anterior. Es importante volver a mencionar que el método acuoso no se encuentra reportado como tal en la literatura fue innovado en el desarrollo experimental de este proyecto. El etanol empleado en todos los casos fue recuperado¹⁶⁷
- 2) En la mayoría de los métodos reportados en la literatura no se especifican minuciosamente las condiciones de extracción o bien tienen algunos problemas que impiden que la reproducción en el laboratorio sea precisa. Otra observación, especialmente al método aplicado a la pulpa de kiwi es que emplea una gran cantidad de etanol para extraer los pigmentos y las enzimas de los vegetales o frutos, y al aplicarlo al tejocote esta cantidad se hace diez veces mayor por la cantidad de pigmento que contiene la pulpa del fruto.
- 3) Al realizar la extracción de la pectina de tejocote con 0.5% de ácido oxálico y condiciones optimas, se obtiene un rendimiento máximo de pectina entre el 11.28 y 19.29%. Estas condiciones de ser aplicadas, aseguran el mayor rendimiento y calidad adecuada para la obtención de la pectina de tejocote a nivel laboratorio y que se pueden extrapolar a nivel piloto.
- 4) Se propone que el cambio de color de la pectina obtenida se debe a posibles compuestos de coordinación formados con las moléculas de los diversos extractantes, no solo con las cadenas de las macromoléculas de pectina sino también con los iones que contienen éstas, procedentes del contenido de la pulpa.

¹⁶⁷ Ver anexo 2.

5.5. - PURIFICACIÓN DE LA PECTINA.

Por este método se obtiene una pectina cuyo cromatograma, corrido en capa fina, dio una sola mancha. El color obtenido del gel y del producto seco, es más claro.

- 1) Para la recuperación del gel de pectina proveniente de la extracción o de la purificación se diseñó una columna de vidrio que facilitó este trabajo. Esta columna es de vidrio, sencilla y de bajo costo, porque para su construcción se emplearon vasos de precipitado de 1.0 L estrellados en la base se unieron y se formó la columna como se mostró en el desarrollo experimental.

5.6. - CARACTERIZACIÓN.

5.6.1. - PUNTO DE FUSIÓN:

La tabla 5.6.1 muestra los resultados obtenidos en la determinación del punto de fusión:

TABLA 5.6.1 PUNTOS DE FUSIÓN

| PECTINA CITRICA | | PECTINA ALTO METOXILO | | PECTINA DE TEJOCOTE | | ACIDO GALACTURONICO | |
|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------|---|---------------------|-------|
| T (C) | OBS. | T (C) | OBS. | T (C) | OBS. | T (C) | OBS. |
| 130 | CAFÉ | 130 | CAFE | 129-130 | CAFÉ | 105-106 | FUNDE |
| 230 | Se carboniza No funde | 230 | Se carboniza No funde | 170 230 | Se carameliza Se carboniza No funde | | |

- 1) Como se observa en la tabla 5.6.1 no se puede determinar un punto de fusión concreto, ya que la muestra se carboniza. Sin embargo, podemos observar que el comportamiento tanto de la pectina citrica, como de la pectina de alto metoxilo y de la extraída de la pulpa del tejocote es el mismo.

5.6.2. - SOLUBILIDAD.

En la tabla 5.6.2, se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad. Mostrando un comportamiento muy similar, además la solubilidad de la pectina de tejocote concuerda con lo reportado en la literatura.

TABLA 5.6.2 SOLUBILIDAD DE DIVERSAS PECTINAS

| DISOLVENTE | PECTINA CITRICA | PECTINA ALTO METOXILO | PECTINA DE TEJOCOTE. |
|------------|---|--|---|
| Tolueno | Insoluble, gelifica, se pone de color blanco. | Insoluble, se torna de color amarillo, gelifica. | Insoluble, gelifica en mayor grado, toma un color anaranjado claro. |

| | | | |
|--------------------------|---|--|--|
| Tetracloruro de carbono. | Idem. | Idem. | Idem, gelifica más. |
| Cloroformo | Insoluble, forma una suspensión. | Insoluble, forma una suspensión, se torna amarilla. | Insoluble, se torna anaranjada, no forma suspensión, gelifica. |
| Xileno | Insoluble, adquiere el sólido consistencia cristalina incolora. | Insoluble, adquiere el sólido un color amarillo. | Insoluble, adquiere el sólido un color café. |
| Acetato de Etilo | Insoluble, forma una suspensión de color amarillo. | Insoluble, forma una suspensión de color amarillo. | Insoluble, forma una suspensión de color anaranjado. |
| Benceno. | Insoluble. | Insoluble, forma un gel amarillo. | Insoluble, forma un gel anaranjado. |
| Hexano | Insoluble, toma un color blanco el sólido. | Insoluble, toma un color amarillo el sólido. | Insoluble, forma un gel anaranjado cristalino. |
| Eter de Petróleo | Insoluble, el sólido toma un color blanco. | Insoluble, el sólido toma un color amarillo. | Insoluble, gelifica tomando un color naranja cristalino. |
| Ciclohexano | Insoluble, el sólido se sedimenta, es de color blanco. | Insoluble, el sólido de color amarillo se sedimenta. | Insoluble, el sólido de color naranja se sedimenta. |
| Eter etílico | Insoluble, gelifica de color blanco. | Insoluble, gelifica de color amarillo. | Insoluble, gelifica de color naranja. |
| Heptano | Insoluble, sólido blanco que se sedimenta. | Insoluble, sólido amarillo que se sedimenta. | Insoluble, sólido anaranjado que se sedimenta. |
| Acetona | Poco soluble, se sedimenta. | Poco soluble se sedimenta un sólido de color amarillo. | Poco soluble, gelifica. |
| metanol | Poco soluble, sólido que se sedimenta. | Poco soluble, sólido amarillo que se sedimenta. | Poco soluble, gelifica, sólido anaranjado sedimenta. |

- 1) Respecto a la solubilidad la tabla 5.6.2 muestra que la pectina de ambas especies es soluble en agua, poco soluble en acetona y metanol, la pectina cítrica poco soluble en dimetil sulfóxido y la de tejocote es soluble en dimetil sulfóxido, la pectina cítrica de alto metoxilo o marca sigma se descompone en ácido sulfúrico, la pectina de tejocote es poco soluble en ácido clorhídrico, en ácido trifluoroacético y tricloroacético.
- 2) Se propone que los colores observados resultan de las interacciones de los disolventes con las cadenas de las macromoléculas de las pectinas, lo mismo sucede cuando se emplean las diversas sustancias para realizar las extracciones, cada una de ellas produce una pectina de color diferente.

5.6.3. – ANÁLISIS CUALITATIVO Y FUNCIONAL ORGÁNICO¹⁶⁸.

La tabla 5.6.3.1 muestra el análisis funcional orgánico de la pectina de tejocote:

TABLA 5.6.3.1 ANALISIS FUNCIONAL ORGÁNICO DE LA PECTINA

| CITRICA | SIGMA | TEJOCOTE |
|--|--|---|
| I. – EXAMEN PRELIMINAR | I. – EXAMEN PRELIMINAR | I. – EXAMEN PRELIMINAR |
| <input type="checkbox"/> Sólido colorido, no cristalino. <input type="checkbox"/> Color crema. <input type="checkbox"/> Olor a paja. <input type="checkbox"/> No flamable. <input type="checkbox"/> Color a la flama naranja. No desprende vapores. Deja residuos. | <input type="checkbox"/> Sólido colorido, no cristalino. <input type="checkbox"/> Color crema. <input type="checkbox"/> Olor a paja. <input type="checkbox"/> No flamable. Color a la flama naranja. No desprende vapores. Deja residuos color gris. | <input type="checkbox"/> Sólido colorido, no cristalino. <input type="checkbox"/> Color café muy claro. <input type="checkbox"/> Inodoro <input type="checkbox"/> No flamable. <input type="checkbox"/> A la flama no desprende vapores. Deja residuos. |
| II. – CONSTANTES FISICAS | II. – CONSTANTES FISICAS | II. – CONSTANTES FISICAS |
| <input type="checkbox"/> Punto de fusión: entre 256.6 y 280 C se carboniza. | <input type="checkbox"/> Punto de fusión: entre 256.6 y 280 C se carboniza. | <input type="checkbox"/> Punto de fusión: entre 260.0 y 280 C se carboniza. |
| III. SOLUBILIDAD | III. - SOLUBILIDAD | III. - SOLUBILIDAD |
| <input type="checkbox"/> H ₂ O (+) <input type="checkbox"/> Eter (-) <input type="checkbox"/> H ₂ SO ₄ (-) <input type="checkbox"/> Dimetil sulfóxido (+-) <input type="checkbox"/> HCl (-) <input type="checkbox"/> TFA y TCA (-) <input type="checkbox"/> NaOH (-) <input type="checkbox"/> NaHCO ₃ (-) | <input type="checkbox"/> H ₂ O (+) <input type="checkbox"/> Eter (-) <input type="checkbox"/> H ₂ SO ₄ (-) se descompone <input type="checkbox"/> Dimetil sulfóxido (+-) <input type="checkbox"/> HCl (-) <input type="checkbox"/> TFA y TCA (-) <input type="checkbox"/> NaOH (-) <input type="checkbox"/> NaHCO ₃ (-) | <input type="checkbox"/> H ₂ O (+) <input type="checkbox"/> Eter (-) <input type="checkbox"/> H ₂ SO ₄ (-) se descompone <input type="checkbox"/> Dimetil sulfóxido (+) <input type="checkbox"/> HCl (+-) <input type="checkbox"/> TFA y TCA (+-) <input type="checkbox"/> NaOH (-) <input type="checkbox"/> NaHCO ₃ (-) |
| IV. ANALISIS ELEMENTAL | IV. ANALISIS ELEMENTAL | IV. ANALISIS ELEMENTAL |
| <input type="checkbox"/> S: (-) <input type="checkbox"/> N: (-) <input type="checkbox"/> X: (-) <input type="checkbox"/> O: (+) | <input type="checkbox"/> S: (-) <input type="checkbox"/> N: (-) <input type="checkbox"/> X: (-) <input type="checkbox"/> O: (+) | <input type="checkbox"/> S: (-) <input type="checkbox"/> N: (-) <input type="checkbox"/> X: (-) <input type="checkbox"/> O: (+) |

La tabla 5.6.3.2 muestra los resultados de las pruebas cualitativas aplicadas:

TABLA 5.6.3.2 ANALISIS CUALITATIVO

| PRUEBA | OBSERVACIONES |
|-------------------------|---|
| DEL ALCALI | COLORACIÓN AMARILLA |
| GELIFICACIÓN CON ETANOL | POSITIVA, FORMACIÓN DE GEL TRANSPARENTE |
| KMnO ₄ | COLOR MÁLAGA, FLUORESCENCIA VERDOSA |

¹⁶⁸ Inicialmente también se realizó un seguimiento por difracción de rayos X. Ver Anexo 3

- 1) El análisis elemental que se llevó a cabo para las tres pectinas indica que contienen solamente C, O e H, como se observa en la tabla 5.6.3.1. Este análisis se llevó a cabo para verificar la existencia de N, S o Halógenos, ya que la bibliografía menciona que estos elementos pueden formar parte de las pectinas.
- 2) De la tabla 5.6.3.2 podemos observar que la caracterización cualitativa de la pectina de tejocote fue positiva, es decir con solución de álcali dio una coloración amarilla, formó un gel transparente con etanol y dio un color Málaga con fluorescencia verdosa cuando se le agregó a la solución acuosa una solución de permanganato de potasio, todo esto comprueba que el producto obtenido en la extracción es pectina.

5.6.4. - CROMATOGRAFIA DE GASES.

En la tabla 5.6.4 se muestran los programas empleados y las observaciones obtenidas al someter a la pectina al proceso de cromatografía de gases:

TABLA 5.6.4 CROMATOGRAFÍA DE GASES DE PECTINA DE TEJOCOTE

| PROGRAMA | TIEMPO DE RETENCION | VOLUMEN INYECTADO | OBSERVACIONES |
|----------|---------------------|--|---|
| 1 | 4.0' | a) 1.0 μ l b) 3.0 μ l | a) 1 señal muy pequeña. b) 2 picos no resueltos. |
| 2 | 4.0' | a) 1.0 μ l b) 2.0 μ l c) 3.0 μ l | a) 2 picos uno grande y un pequeño al final. b) 1 sola señal pequeña. c) 1 sola señal muy grande. |
| 3 | 4.0' 5.0', 20" | a) 3.0 μ l | a) 2 picos. Se efectuaron 3 corridas, 2 repetitivas. |
| 4 | 2.0' 25" | a) 3.0 μ l | a) 1 pico con un residuo. |
| 5 | 4.0' | a) 3.0 μ l | a) 1 pico no bien resuelto. |

Resultados de las corridas efectuadas en el equipo Gow-Mac de FES-Cuautitlán.

Posteriormente se realizó una corrida en un cromatógrafo de gases del CINVESTAV-IPN, Departamento de Biotecnología el cual nos sirvió como análisis cualitativo de la presencia de grupos metoxilo en 2 muestras de pectina de tejocote extraída empleando ácido oxálico como agente extractante.

Los tiempos de retención para los grupos metoxilo son de 4.173 y 4.297, por el área bajo la curva vemos que una muestra contiene mayor porcentaje de éstos¹⁶⁹.

- 1) En cuanto al análisis por cromatografía de gases encontramos dos situaciones: una nos muestra que la columna del equipo Gow-Mac no tiene la resolución suficiente para determinar la pectina ni los grupos metoxilo contenidos en ella; la otra situación nos indica que teniendo una columna de mayor resolución como las columnas capilares

¹⁶⁹ Ver anexo 3.

podemos analizar la mezcla de pectina y sus respectivos grupos metoxilos, además nos indican el tiempo de retención de éstos.

5.6.5. - CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS.

En la tabla 5.6.5.1 se muestran el número de fracciones (en función del tiempo de retención) y los pesos moleculares de las mismas, obtenidos por cromatografía de líquidos de alta resolución, de la pectina extraída de pulpa de tejocote con ácido oxálico:

TABLA 5.6.5.1 PECTINA EXTRAIDA DE PULPA DE TEJOCOTE, VARIEDAD H CON ACIDO OXALICO (0.1037g/500mL)

| TIEMPO DE RETENCION | PESO MOLECULAR (DALTONES) |
|---------------------|---------------------------|
| 5.53 | 836428.1 |
| 6.35 | 699343.6 |
| 5.63 | 819710.5 |
| 6.43 | 685969.5 |
| 6.66 | 647519.0 |
| 6.73 | 635816.7 |
| 11.71 | 1073.9 |

En la tabla 5.6.5.2 se muestran el número de fracciones (en función del tiempo de retención) y los pesos moleculares de las mismas, obtenidos por HPLC, de la pectina extraída de pulpa de tejocote de la variedad H con el método acuoso:

TABLA 5.6.5.2 PECTINA EXTRAIDA CON AGUA (0.1132g/100mL)

| TIEMPO DE RETENCION | PESO MOLECULAR (DALTONES) |
|---------------------|---------------------------|
| 4.76 | 965153.8 |
| 5.76 | 797977.6 |
| 6.54 | 667580.2 |

En la tabla 5.6.5.3 se muestran el número de fracciones (en función del tiempo de retención) y los pesos moleculares de las mismas, obtenidos por cromatografía de líquidos de alta resolución, de la pectina comercial esterificada:

TABLA 5.6.5.3 PECTINA ESTERIFICADA (0.1212g/100mL)

| TIEMPO DE RETENCION | PESO MOLECULAR (DALTONES) |
|---------------------|---------------------------|
| 4.94 | 935062.1 |
| 5.52 | 838099.9 |
| 14.38 | 80.2 |

En la tabla 5.6.5.4 se muestran el número de fracciones (en función del tiempo de retención) y los pesos moleculares de las mismas, obtenidos por cromatografía de líquidos de alta resolución, de la pectina cítrica grado reactivo analítico:

TABLA 5.6.5.4 PECTINA CITRICA (0.11g/100mL)

| TIEMPO DE RETENCION | PESO MOLECULAR (DALTONES) |
|---------------------|---------------------------|
| 4.04 | 1085521.0 |
| 4.70 | 975184.4 |

La Curva Patrón con la que se determinaron los pesos moleculares de las diversas fracciones contenidas en las soluciones de pectina estudiadas y los cromatogramas correspondientes pueden consultarse en el anexo 4.

- 1) La cromatografía de líquidos de alta resolución da información del número de fracciones que contienen las soluciones de pectina así como sus pesos moleculares correspondientes, empleando estándares de pesos moleculares conocidos en Daltones y determinando sus tiempos de retención. Como se observa en las tablas anteriores las pectinas que se extrajeron con el método acuoso están constituidas por 3 fracciones de peso moleculares que oscilan entre 670,000 a 970,000 Daltones. Las pectinas que se extraen con ácido oxálico están constituidas por 7 fracciones de pesos moleculares que oscilan entre 1000 a 840,000 Daltones. La pectina cítrica de alto metoxilo o sigma tiene 3 fracciones de pesos moleculares entre 80.0 y 935000.0 Daltones. La pectina cítrica está constituida por 2 fracciones una de 1085521.0 y otra de 975184.4 Daltones.

5.6.6. – ANÁLISIS DE PECTINAS CON MÉTODOS POTENCIOMÉTRICOS.

En la tabla 5.6.6.1 se muestran diversos métodos de extracción de pectina así como el rendimiento correspondiente, además el peso equivalente, el % de metoxilos y el % de ácido anhidrouónico obtenidos desarrollando métodos potenciométricos.

TABLA 5.6.6.1 METODOS DE EXTRACCIÓN Y PROPIEDADES

| METODO | PESO EQ. | % MeO | %AAU | % η |
|-----------|----------|-------|-------|-------------|
| ACUOSO | 1821.58 | 10.35 | 68.78 | 10.17 |
| AC. OXAL. | 299.56 | 3.16 | 78.72 | 4.14 Y 15.0 |
| NaOH | 1326.86 | 6.98 | 56.57 | 2.67 |
| HCl | 517.76 | 5.28 | 63.54 | 1.66 |

En la tabla 5.6.6.2 se muestran el % de metoxilos y el % de ácido anhidrouónico de la pectina cítrica usada como referencia; así como los datos bibliográficos:

TABLA 5.6.6.2 PROPIEDADES DE ESTRUCTURA DE PECTINA CÍTRICA

| | %MeO | %AAU |
|----------------------------|---------|------|
| CITRICA USP | 8.9 | 68.0 |
| CITRICA REACTIVO ANALITICO | 7.0-8.0 | 60.0 |
| CITRICA LITERATURA | 6.0-7.0 | 74.0 |

En la tabla 5.6.6.3 observamos diversos métodos de extracción de pectina, realizados como observación previa (promedio de 3 extracciones), su rendimiento, el % de grupos metoxilo y el porcentaje de ácido anhidrouónico de ésta.

TABLA 5.6.6.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y CARACTERÍSTICAS

| SOLUCIÓN EXTRACTORA | RENDIMIENTO (%) | % MeO | % AAU |
|------------------------|-----------------|-------|-------|
| Acido oxálico al 0.5 % | 15.0 | 1.0 | 45.0 |
| Acido oxálico al 5.0 % | 3.0 | 2.0 | 65.0 |
| HCl | 1.0 | 2.0 | 60.0 |
| Acuoso | 7.0 | 10.0 | 70.0 |
| NaOH | 2.0 | 7.0 | 55.0 |

En la tabla 5.6.6.4 podemos observar un análisis comparativo del peso equivalente, el %MeO y el % AAU en 3 muestras de pectina: de tejocote (extracción acuosa), cítrica y cítrica marca Sigma.

TABLA 5.6.6.4 PROPIEDADES QUIMICAS DE 3 TIPOS DE PECTINAS

| PECTINA | PESO EQUIVALENTE | %MeO | %AAU |
|----------|------------------|-------|------|
| Tejocote | 1978.75 | 13.33 | 72.0 |
| Cítrica | 1443.0 | 14.82 | 64.0 |
| Sigma | 630.91 | 12.95 | 60.3 |

Los valores reportados en las tablas anteriores son resultado de 10 determinaciones por cada método de extracción, excepto donde se indica que fueron 3. Los cálculos correspondientes para obtener los datos reportados en las tablas y otras gráficas con sus respectivas tabulaciones pueden ser consultadas en el anexo 2.

- 1) Se desarrollaron algunos métodos potenciométricos para determinar algunas de las características importantes de las sustancias pécticas, que las van a definir como ácidos pécticos o pectatos, como son: peso equivalente, porcentaje de ácido anhidrouónico y porcentaje de grupos metoxilo que determinará el grado de esterificación de la pectina. La técnica originalmente encontrada solo empleaba una valoración volumétrica empleando el rojo de metilo como indicador; los resultados obtenidos con ella eran muy subjetivos, porque el rango de vire del indicador no era definido ni podíamos determinarlo con precisión.
- 2) Todos los datos experimentales reportados son valores promedio de al menos 10 determinaciones, en general fueron más ya que se encontraban diversidad en los resultados como lo comentaremos más adelante.
- 3) El porcentaje de metoxilos encontrado para la pectina extraída por el método acuoso es mayor que el reportado en la literatura y el encontrado experimentalmente para las pectinas cítricas. Las extracciones ácidas y básicas disminuyen el grado de esterificación de la pectina. También puede observarse que para un mismo método de extracción podemos encontrar diversos valores de contenido de metoxilo, esto se debe a que ninguna muestra de pectina es igual a otra porque la distribución de los polímeros que la contienen no es constante, es aleatoria. Lo mismo sucede para las otras determinaciones.
- 4) Con el método de extracción con ácido oxálico se obtienen pectinas que contienen el mayor contenido de ácido anhidrouónico.
- 5) El peso equivalente mayor lo tienen las pectinas extraídas con el método acuoso.
- 6) El volumen de equivalencia, en las curvas de valoración potenciométrica, fue determinado empleando el método de las paralelas.

5.6.7. - CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA.**5.6.7.1. - ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.**

Se observaron, en general, dos absorciones importantes en todas las corridas efectuadas de diferentes tipos de pectina, lo cual se muestra en la tabla 5.6.7.1.1:

TABLA 5.6.7.1.1 ABSORCIONES DE PECTINA EN ULTRAVIOLETA

| ESPECTRO | PECTINA CITRICA | PECTINA DE TEJOCOTE |
|----------|--------------------------------------|---|
| 1 | λ_{MAX} : 202.00 y 278.00 nm | λ_{MAX} : 199.00 y 278.00 nm |
| 2 | λ_{MAX} : 199.00 y 278.00 nm | λ_{MAX} : 195.00 y 278.00 nm |
| 3 | λ_{MAX} : 199.52 y 280.00 nm | |
| 4 | | (ACUOSA) λ_{MAX} : 200.0 y 280.3 nm |
| 5 | | (ACUOSA) λ_{MAX} : 200.0 y 280.3 nm |

Las características de cada espectro se presentan en la tabla 5.6.7.1.2.

TABLA 5.6.7.1.2 CARACTERÍSTICAS DE ESPECTROS ULTRAVIOLETA

| ESPECTRO | CARACTERÍSTICAS |
|----------|--|
| 1 | Corresponde a un espectro ultravioleta de pectinas de alto metoxilo tanto de las extraídas de la pulpa de tejocote, variedades H y D, como cítrica grado reactivo analítico y USP. |
| 2 | Corresponde a un espectro ultravioleta de pectinas de bajo metoxilo extraídas de la pulpa de tejocote, variedades H y D, y de pectina cítrica grado reactivo analítico y USP. |
| 3 | Espectro de pectina cítrica |
| 4 | Espectro de pectina de tejocote extraída por método acuoso. |
| 5 | Idem. |

La asignación de las λ de los espectros se muestra en la tabla 5.6.7.3:

TABLA 5.6.7.1.3 ASIGNACIÓN DE BANDAS

| PECTINA | BANDAS (nm) | ASIGNACIÓN |
|----------|-----------------|--|
| CITRICA | 199.00 A 202.00 | Pertenece al grupo $>C = O$, del ácido. |
| | 278.00 a 280.00 | Pertenece al grupo $>C = O$, del éster. |
| TEJOCOTE | 199.00 a 200.00 | Pertenece al grupo $>C = O$, del ácido. |
| | 278.00 a 280.3 | Pertenece al grupo $>C = O$, del éster. |

Podemos destacar que el comportamiento de la pectina de tejocote es similar al comportamiento de la pectina cítrica. Los espectros UV – Visible pueden consultarse en el anexo 5.

- 1) De la información que hasta ahora se tiene en las tablas anteriores podemos decir que la estructura de la pectina de tejocote es muy similar a la de la pectina cítrica, por lo que podemos esperar que en su estructura se encuentren grupos cromóforos en la región de radiación ultravioleta del tipo carbonilo y carboxilo. Teóricamente, el grupo carbonilo cetona presenta en el espectro ultravioleta, dos absorciones importantes, en las $\lambda_{\text{máx}}$, 188 y 279 nm. Y los grupos carboxilo presentan la absorción en 204 nm.
- 2) Los resultados obtenidos en los espectros muestran que estas absorciones han sufrido efectos batocrómicos, hipocrómicos e hiperocrómicos debido a los sustituyentes vecinos o por el disolvente empleado, ya que las absorciones encontradas son: para pectina cítrica 199.0 y 278.0 nm y para la pectina de tejocote (extraída por el método acuoso) de 200.0 y 280.3 nm. El grupo carbonilo contiene en el enlace σ un par de electrones, 1 par de electrones en π y 2 pares de electrones de antienlace. Las cetonas saturadas presentan 3 bandas de absorción, 2 bandas en la región ultravioleta lejano, la primera una absorción fuerte aproximadamente en 150.0 nm debida a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ y la segunda alrededor de 190.0 nm debida a la transición $n \rightarrow \sigma^*$. La tercera banda se presenta en el ultravioleta cercano, es una banda R que aparece aproximadamente entre 270 y 300 nm. Esta es una banda débil con un coeficiente de extinción máxima menor de 30, resultante de la transición prohibida $n \rightarrow \pi^*$.
- 3) En realidad para las moléculas de pectina se presentan las absorciones cerca de 200.0 debida a los grupos carboxilos libres del ácido péctinico y las de 278.0 - 280.0 debidas al grupo carbonilo metoxilado.

5.6.7.2. – ESPECTROSCOPIA INFRARROJA¹⁷⁰

Se presentan resultados de los espectros infrarrojos de pectina cítrica de alto metoxilo, pectina cítrica de bajo metoxilo, pectina de tejocote de alto metoxilo, pectina de tejocote de bajo metoxilo, pectina extraída por el método acuoso, pectina extraída por el método oxálico, de la pectina cítrica grado reactivo analítico y pectina cítrica con alto contenido de ácido galacturónico (85.0%).

En las tablas 5.6.7.2.1 y 5.6.7.2.2 se muestran las señales obtenidas y la asignación de los grupos funcionales correspondientes.

¹⁷⁰ Los espectros de infrarrojo pueden consultarse en el anexo 6.

TABLA 5.6.7.2.1 ESPECTROS DE INFRARROJO

| ESPECTRO | SEÑALES (cm ⁻¹) | ASIGNACIONES Y OBSERVACIONES |
|---|---|--|
| PECTINA CITRICA (DEPEST) | 3434.0 2947.0 1749.2 1624.1 1420.1 1334.6 1235.8 1156.9 1117.4 1018.6 959.4 847.5 643.5 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: C=O del -COOMe. Banda correspondiente a: grupo C=O del ácido - COOH, Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| PECTINA TEJOCOTE (ACUOSO) (PECAQ) | 3440.6 2940.4 1749.2 1637.3 1446.4 1374.0 1275.3 1117.4 1018.6 959.4 926.5 604.0 479.0 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: C=O del -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| PECTINA TEJOCOTE (OXÁLICO) (PECACOX) | 3743.3 3440.6 2933.8 1749.2 1617.6 1584.6 1406.9 1308.2 1275.3 1110.8 1018.6 722.5 643.5 472.4 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: C=O del -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| PECTINA CITRICA GAL | 3427.4 2927.2 1768.9 1624.1 1439.9 1380.6 1268.7 1156.9 1110.8 1018.6 966.0 847.5 630.3 446.1 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: C=O del -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |

TABLA 5.6.7.2.2 ESPECTROS INFRARROJOS

| ESPECTRO | SEÑAL (cm ⁻¹) | ASIGNACIONES Y OBSERVACIONES |
|--------------------------------------|---------------------------|--|
| PECTINA CITRICA DE ALTO METOXILO | 3562.0 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: C=O del -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| | 3388.0 | |
| | 2970.0 | |
| | 2942.0 | |
| | 1734.0 | |
| | 1684.0 | |
| | 1636.0 | |
| | 1560.0 | |
| | 1278.0 | |
| | 1068.0 | |
| | 1052.0 | |
| | 942.0 | |
| 552.0 | | |
| 536.0 | | |
| 472.0 | | |
| PECTINA CITRICA DE BAJO METOXILO | 3818.0 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| | 3562.0 | |
| | 3388.0 | |
| | 2970.0 | |
| | 2942.0 | |
| | 1750.0 | |
| | 1636.0 | |
| | 1430.0 | |
| | 1386.0 | |
| | 1280.0 | |
| | 1160.0 | |
| | 1098.0 | |
| | 1054.0 | |
| | 1014.0 | |
| | 990.0 | |
| 910.0 | | |
| 732.0 | | |
| 642.0 | | |
| 584.0 | | |
| 552.0 | | |
| PECTINA TEJOCOTE DE ALTO METOXILO | 3392.0 | Banda correspondiente al grupo funcional OH- Banda v dl enlace C – H alifático. Banda correspondiente al grupo carbonilo: -COOMe. Banda correspondiente a: - COOH. Banda correspondiente a la vibración del enlace – C – O. Banda δ del grupo – COOH. |
| | 2926.0 | |
| | 2368.0 | |
| | 1750.0 | |
| | 1558.0 | |
| | 1456.0 | |
| | 1106.0 | |
| | 922.0 | |
| | 848.0 | |
| | 768.0 | |
| 476.0 | | |
| PECTINA DE TEJOCOTE DE BAJO METOXILO | IDEM | |

- 1) Mediante la espectroscopía infrarroja encontramos los siguientes grupos funcionales: - OH, - C - H alifático, - C = O, - COOCH₃, - COOH, vibración - C - O, y la banda δ del grupo - COOH, lo cual concuerda con los grupos sugeridos para las pectinas cítricas y podemos entonces afirmar que las pectinas de tejocote también contienen estos grupos funcionales y muy probablemente la misma estructura.

5.6.7.3. - ESPECTROMETRIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

En el anexo 7 se presenta el espectro de resonancia magnética nuclear resultante de la solución de pectina de tejocote extraída por el método con ácido oxálico como agente extractante. Es un espectro complejo de RMN¹H en donde no se observan patrones de acoplamiento sencillos y posibles de identificar.

5.6.8. - CARACTERIZACIÓN ESPECTROMÉTRICA POR ICP¹⁷¹.

En la tabla 5.6.8 se muestra el contenido de minerales en la pectina de tejocote extraída por el método acuoso, determinados por la técnica de ICP:

TABLA 5.6.8 CONTENIDO IÓNICO DETERMINADO POR ICP EN ppm

| PECTINA ACUOSA | | | | |
|-----------------|---------|---------|--------|--------|
| Zn | Fe | Cr | Ca | K |
| 0.4598 | 0.0504 | 0.02951 | 4.091 | 4.1410 |
| PECTINA OXALICA | | | | |
| 0.3647 | 0.03023 | 0.02362 | 0.9875 | 2.838 |
| PECTINA CITRICA | | | | |
| 0.1154 | 0.05465 | 0.02664 | 3.661 | 0.5248 |

SOLUCIÓN: 0.1440 g/100 mL

- 1) Como se muestra en la tabla 5.6.8 las pectinas de tejocote extraídas por el método acuoso tienen elementos inorgánicos presentes en el fruto, fueron encontrados: Ca, K, Zn, Fe, Cr, entre otros. Las pectinas extraídas de tejocote contienen gran cantidad de Ca y Zn, por lo que puede ser usada en la industria alimenticia.
- 2) El contenido de iones inorgánicos en la pectina de tejocote extraída por el método acuoso es mayor que en la pectina oxálica y la cítrica. Es importante destacar que lo observado en estos resultados respecto al calcio confirma la hipótesis de que la pectina tiene como función fisiológica unir a las células y que esta función se lleva a cabo formando estructuras funcionales de caja de huevo en donde el calcio tiene una gran importancia. Cuando realizamos la extracción acuosa la pectina guarda una gran cantidad de calcio, mientras que el empleo de ácido oxálico forma compuestos de

¹⁷¹ En el anexo 8 se pueden consultar las condiciones del método para esta determinación.

coordinación con el calcio y al evaluarlo en la pectina se obtienen resultados más bajos.

5.6.9. - COMPORTAMIENTO REOLÓGICO¹⁷².

Se obtuvieron una serie de gráficos para determinar las propiedades viscoelásticas de soluciones de pectina. En la tabla 5.6.9.1 se resume el comportamiento encontrado:

TABLA 5.6.9.1 COMPORTAMIENTO REOLOGICOS DE SOLUCIONES DE PECTINA AL 1.0%

| GRAFICA | COMPORTAMIENTO |
|--|---|
| 1. VISCOSIDAD (η) vs VELOCIDAD DE CIZALLA ($\dot{\gamma}$) | PECTINA DE TEJOCOTE. – La viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizalla. PECTINA CÍTRICA. – La viscosidad se mantiene constante al aumentar la velocidad de cizalla. |
| 2. ESFUERZO CORTANTE (τ) vs VELOCIDAD DE CIZALLA ($\dot{\gamma}$) | PECTINA DE TEJOCOTE. – Se observa un comportamiento pseudoplástico. PECTINA CÍTRICA. – Se observa un comportamiento Newtoniano. |
| 3. GRAFICA LOGARITMICA DE ESFUERZO CORTANTE (τ) vs VELOCIDAD DE CIZALLA ($\dot{\gamma}$) | PECTINA DE TEJOCOTE. – Se comprueba que el comportamiento pseudoplástico se puede explicar por el modelo de Ostwald de Waele con los parámetros $K = 152.4$ y $n = 0.7792$. |
| 4. GRAFICA LOGARITMICA DE ESFUERZO CORTANTE (τ) vs VELOCIDAD DE CIZALLA ($\dot{\gamma}$) | PECTINA DE TEJOCOTE. – Comprueba el comportamiento observado. PECTINA CÍTRICA. – Comprueba el comportamiento observado en las gráficas anteriores. |
| 5. GRAFICA DE MODULO DE ALMACENAMIENTO (G') Y MODULO DE PERDIDA (G'') vs ESFUERZO CORTANTE (τ). | PECTINA DE TEJOCOTE. – El módulo de almacenamiento (G') permanece prácticamente constante al aumentar el esfuerzo cortante. Además a $(\tau) < 10^2$: $G'' > G' \Rightarrow$ el comportamiento de la solución es de un líquido viscoso. A valores de $(\tau) > 10^2$: $G' > G'' \Rightarrow$ el comportamiento de la solución es de un sólido viscoelástico. PECTINA CÍTRICA. – El módulo de almacenamiento G' prácticamente se mantiene constante al incrementar el esfuerzo cortante, mientras que el módulo de pérdida G'' disminuye. |
| 6. GRAFICA DE MODULO DE ALMACENAMIENTO (G') Y MÓDULO DE PÉRDIDA (G'') vs FRECUENCIA (f). | PECTINA DE TEJOCOTE. – Para valores de frecuencia menores a 3×10^{-1} : $G' < G'' \Rightarrow$ la solución se comporta como un líquido viscoso. A frecuencias mayores a 3.0×10^{-1} : $G'' < G' \Rightarrow$ la solución se comporta como un sólido viscoelástico. PECTINA CÍTRICA. – A valores mucho menores de frecuencia cambia de comportamiento. A frecuencias menores de 7.8×10^{-1} : $G' < G'' \Rightarrow$ la solución se comporta como un líquido viscoso. A frecuencias mayores de 7.8×10^{-1} : $G'' < G' \Rightarrow$ la solución se comporta como un sólido viscoelástico. |

¹⁷² Ver en el anexo 9 las gráficas y los programas empleados para obtenerlas.

En la tabla 5.6.9.2 se muestran los valores de viscosidad obtenidos con el reómetro y con un viscosímetro de Ostwald.

TABLA 5.6.9.2 VISCOSIDADES DE LAS SOLUCIONES DE PECTINA

| PECTINA CITRICA | PECTINA DE TEJOCOTE |
|---|--|
| VISCOSIDAD (determinada en el reómetro de una solución 1.0% es constante): 14.5 mPa s | VISCOSIDAD (determinada en el reómetro a velocidad de cizalla 0.0, de una solución 1.0%): 73.5 mPa s. VISCOSIDAD (determinada con el viscosímetro de Ostwald, de una solución 0.001%): 1.04 mPa s. VISCOSIDAD (determinada con el viscosímetro de Ostwald, de una solución 0.1%): 2.174 mPa s. |

- 1) Como se observa en las tablas anteriores y en las gráficas del anexo 10 las soluciones de pectina de tejocote tienen un comportamiento de flujo pseudoplástico, la viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizalla, además dicho comportamiento se puede representar por el modelo de Ostwald de Waele.
- 2) A esfuerzo cortante menor de 10^2 el comportamiento de la solución es de un líquido viscoso y a valores de esfuerzo cortante mayores de 10^2 el comportamiento de la solución es de un sólido viscoelástico.
- 3) A frecuencias menores de 3.0×10^{-1} la solución se comporta como un líquido viscoso, y a frecuencias mayores la solución se comporta como un sólido viscoelástico. En un comportamiento pseudoplástico la viscosidad determinada es aparente porque no es constante, es decir, la viscosidad disminuye si la masa aumenta.
- 4) Las soluciones de pectina cítrica presentan un comportamiento de flujo Newtoniano, es decir, son idealmente viscosas. La viscosidad, en estos casos no depende de la carga, de la masa o de la resistencia.
- 5) Probablemente las diferencias de comportamiento reológico se debe al contenido de fracciones de las pectinas, de sus conformaciones y del contenido iónico de las mismas.

5.7. – ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA EXTRACCIÓN.

En la tabla 5.6.10 se muestra el análisis económico de los procesos de extracción de pectina de tejocote comparados con el costo de pectina de diversas fuentes.

TABLA 5.7 ANÁLISIS ECONÓMICO DE DOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN DE PECTINA

| PECTINA (0.5 Kg) | COSTO (pesos) |
|--|----------------------|
| PECTINA CITRICA (IMPORTACIÓN) | 1,082.25 y 1,013.51 |
| PECTINA DE TEJOCOTE, MÉTODO ACUOSO | 817.76 |
| PECTINA DE TEJOCOTE, MÉTODO OXÁLICO | 751.28 |
| PECTINA DE TEJOCOTE, MÉTODO SECUENCIAL | 850.00 |

- 1) Con los datos mostrados en la tabla 5.7 vemos que es muy rentable efectuar la extracción y si tuviéramos los precios de los reactivos en cantidades industriales los costos se abatirían todavía más.
- 2) Es necesario impulsar la industria Nacional y los proceso aquí propuestos nos servirían para obtener productos pécticos y así evitar tener un gasto anual de 3,053,190 de dólares americanos en importar dichos productos. Fuente: SECOFI con datos de Banxico, de enero a agosto del 2000.

6. CONCLUSIONES GENERALES

- Como se observó en los resultados, la operación de escaldado de tejocote fue adecuado al emplear agua caliente y favoreció a la segunda operación preliminar que es el despulpado.
- El empleo de sulfito de sodio y benzoato de sodio como antimicrobianos junto con la refrigeración ofrecen buenos resultados para la conservación de la pulpa de tejocote.
- Otra operación preliminar es el secado de la pulpa. Cuando se realiza con microondas se afecta el contenido de pectina. Como no se optimizó un método de secado adecuado se trabajó con la pulpa húmeda, lo cual no afectó los procesos de extracción.
- El análisis bromatológico de la pulpa no difiere del reportado, excepto en el contenido de pectina, ya que el encontrado experimentalmente es mayor.
- Los métodos de extracción modifican la estructura de la pectina, bien porque las condiciones provocan reacciones de hidrólisis o de formación de cooperativas o compuestos de coordinación con las soluciones extractoras.
- Se desarrollaron y optimizaron varios métodos de extracción, de los empleados en este trabajo podemos decir que el método aplicado a betabel requiere condiciones muy específicas para llevar a cabo la diálisis, es un método caro debido al precio de las membranas. Además se requeriría emplear varias membranas de diferente tamaño de poro por las diversas fracciones que componen a estas sustancias pécticas.
- El método aplicado a la pulpa de kiwi no es apropiado para la pulpa de tejocote pues requiere muy grandes cantidades de etanol.
- El gel de pectina que se obtiene cuando se usa EDTA como agente extractante no es tan firme como el que se obtiene con los otros métodos.
- El método que emplea ácido oxálico es muy adecuado, pues disminuye el contenido iónico y aumenta el rendimiento de pectina extraída. El número de fracciones de sus soluciones es mayor, 7 fracciones con pesos moleculares que oscilan entre 836428.1 y 1073.9 Daltones. Además el porcentaje de ácido anhidrouónico es más elevado en las pectinas extraídas con este método.
- El método innovado en esta investigación que emplea agua ligeramente acidulada es el más sencillo. Con él se extraen pectinas de alto peso molecular que oscila entre 965153.8 y 667580.2 Daltones. El método se fundamenta en la propiedad de solubilidad en agua de las pectinas. Las muestras de pectina extraída con este método tienen mayor contenido de iones. Además el porcentaje de esterificación es mayor.

- El secado de la pectina extraída es un método no reportado en la literatura. Es sencillo y fácil de efectuar.
- La mayoría de las propiedades fisicoquímicas tanto de la pectina cítrica como de la de tejocote coinciden por lo que proponemos que ambas tienen una estructura muy parecida.
- Los métodos de caracterización empleados son efectivos, precisos y reproducibles para obtener los resultados.
- Los métodos potenciométricos permitieron obtener con mayor precisión los datos de peso equivalente, porcentaje de metoxilos y porcentaje de ácido anhidrouónico en las sustancias pécticas. El contenido de estas propiedades es mayor en las pectinas de tejocote que en las pectinas cítricas que se emplearon como control.
- Los espectros ultravioleta-visible e infrarrojo mostraron información acerca de los grupos funcionales que forman parte de las pectinas.
- Las pectinas están asociadas a los iones presentes en las especies de las cuales son extraídas y que confirman su función biológica de cemento celular y su asociación con iones calcio, ya que el contenido de éste disminuye cuando se emplea ácido oxálico para las extracciones.
- Las soluciones poliméricas de pectina de tejocote tienen un comportamiento de flujo pseudoplástico y las de pectina cítrica tienen un comportamiento de flujo Newtoniano. Esta diferencia en el comportamiento puede deberse al número de fracciones que las constituyen o bien a la asociación de las cadenas de las macromoléculas con los iones presentes.
- La industrialización del tejocote, para la extracción de pectina, es rentable desde el punto de vista económico, ya que también se aprovecharían otros productos como colorante, enzimas, otras sustancias como fitocidas, principios activos para medicamentos, etc., y finalmente los residuos del proceso de industrialización química pueden usarse como forraje animal o bien como fertilizante.
- Falta mucho por hacer en la investigación de este enano por su tamaño pero gigante en toda su potencialidad, edafológica, química, alimentaria, industrial y medicinal.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

1. Food Science and Tech. A Series of Monog. Gum Tech. in the Food Industry. **1969**.
2. Schellman J. A. Symmetry Rules for Optical Rotation. **1968**. **1**, 144-151.
3. Gillard R.D. The Cotton Effect in Coordination Compounds. **1966**. 215-259.
4. Bender W.A. Pectin. **1960**. 377-425.
5. Proctor A and Peng L.C. Journal of Food Science. **1989**. **54**, [2] 385-387.
6. J. Agric. Food Chem. **1982**. **30**. 768-770.
7. Hagerman Ann E and Austin Paul J. J. Agric. Food Chem. **1986**. **34**, [3] 440-444.
8. Sidwell A. P and Cain Robert F. Food Technology, **1955**. September. 1438-441.
9. Badui, D. S. Química en Alimentos. **1984**. 2da. Reimpresión. Ed. Alhambra. Méx. D.F.
10. Baker, G.L. Food Technology. **1959**. **13**[9], 496-500.
11. Körner B., Zimmermann G and Berk Z. Journal of Food Science. **1980**. **45**.
12. Carré B., Brillouet JM and Thibault JF. J. of Food Science. **1985**. **33**, [2] 285-292.
13. Roe B and Bruemmer J. H. Journal of Food Science. **1981**. **46**, 186-189.
14. Batisse C., Fils-Lycaon B and Buret M. J. of Food Science. **1994**. **59**, [2] 389-393.
15. Rolin C and De Vries J. 1990. Pectin. Elsevier Appl. Food Science. Cap. 10. 401-434.
16. Vidal-V. C., Blanco I and Rojas-Hidalgo E. J. Agric. Food. Chem. **1982**. **30**, 832-835.
17. Vidal- V. C., Pérez L. M and Rojas-H. E. J. Agric. Food Chem. **1983**. **31**. 949-953.
18. Powell D.A., Morris E.R., Gidley M.J and Rees D.A. J. Mol. Biol. **1982**. **155**, 507-516.
19. Anderson D.M.W. and King N.J. Biochim. Biofys. Acta. **1961**. **52**, 441, 449, 5333-8.
20. O'Beirne D and Van Buren J. P. Journal of Food Science. **1983**. **48**, 276-277.
21. O'Beirne D., Van Buren J. P and Mattick L. R. J. of Food Science. **1981**. **47**, 173-176.
22. Oakenfull D and Scott Alan. Journal of Food Science. **1984**. **49**, 1093-1098.
23. Friend D. R and Chang G. W. J. Agric. Food. Chem. **1982**. **30**, [5] 982-985.
24. Dee Hua Huang. N. Rama Krishna. Carbohydr. Res. **1986**. **155**, 193-199.
25. Boothby Derek. Phytochemistry. **1980**. **19**, 1149-1953.
26. Mckay D. A. M. Bioresource Technology. **1994**. **47**, 25-28.
27. Carbonell E., Costell E y Durán L. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. **1990**. **30**, [1] 1-9.
28. Guichard E., Issanchou S., Descourvieres A and Etievant P. Journal of Food Science. **1991**. **56**, [6] 1621-1627.
29. McComb E. A and McCreedy R. M. Analytical Chemistry. **1957**. **29**, [5] 819-821.
30. Jansen E.F., Waisbrot S.W and Reitz E. Indust. and Engineering Chem. **1944**. **16**, [8] 523-524.
31. Quijano Cervera E. M & Mejía Sánchez G M. Bioresource Technol. **1993**. **44**, 61-63.
32. Quijano C. E. M & Mejía S. G. M. Rev. Soc. Quím. Méx. **1992**. **36**. [5] 203-211.
33. McComb E. A and McReedy R. M. Analitical Chemistry. **1952**. **24**, [10] 1630-1632.
34. Final Report of the IFT Committe. Pectin Std. Food Tech. **1959**. **XIII**, [9] 496-500.
35. Michel F., Thibault J.-F., Mercier C., Heitz F and Pouillaude F. Journal of Food Science. **1985**. **50**, 1499-1500.
36. Hernández M., Chávez A y Burges H. Publicaciones de la División de Nutrición. Instituto Nacional de Nutrición. **1977**. Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos.
37. Brownsey. G. J. 7th Gums and Stabilisers for the Food Industry Conference. Trends in Food Science & Technology. **1994**. **5**, 27-29.
38. Aspinall G., Gestetner B., Molloy J and Uddin M. J. Chem. Soc. (C). **1968**. 2254-2559.
39. Manning G. S. The Journal of Chemical Physic. **1969**. **51**, [3] 924-933.
40. Chapman G. W. Jr and Hovart R.J. J. Agric. Food Chem. **1990**. **38**, 383-387.
41. Robertson G. L and Swinburne D. Journal of Food Science. **1981**. **46**, 1557-1559.
42. Grant G., Morris E., Rees D., Smith P and Thom D. Febs Letters. **1973**. **32**, [1] 195-198.
43. Gudipati Muralikishna & Rudrapatnam Tharanathan. Food Chemistry. **1994**. **50**, 29-32.
44. Mottern H and Hill C. Industrial and Engineering Chemistry. **1946**. **28**, [11] 1153-1156.
45. Englyst H. N., Quigley M. E and Hudson G. J. Analyst. **1994**. **119**, 1497-1509.
46. Higareda, R.A. Memorias del I Encuentro Nacional del Tejocote. **1991**. p. 29.
47. Siddiqui I. R. J. Agric. Food Chem. **1990**. **38**, 70-74.
48. Giese James. Food Technology. **1992**. 118-123.

49. Purcell James M and Fishman Marshall L. *Carbohydr. Res.* **1987.** 185-190.
50. Thibault J.-F and Rinaudo M. *British Polymer Journal.* **1985.** **17,** [2] 181-184.
51. Thibault Jean-F., Garreau C and Durand D. *Carbohydr. Res.* **1987.** **63,** 15-27.
52. Thibault Jean-Francois. *Phytochemistry.* **1983.** **22,** [7] 1567-1571.
53. Thibault Jean-Francois. *Carbohydr. Res.* **1986.** **155,** 183-192.
54. Klavons J. A and Bennett Raymond D. *J. Agric. Food Chem.* **1986.** **34,** 599-602.
55. Klavons J., Bennett R. and Vannier S. *J. of Food Science.* **1994.** **59,** [2] 399-401.
56. Joseph, G, H. *Food Technology.* **1949.** 18-22.
57. Dziezak J. D. A Focus on Gums. Special Report. *Food Technology.* **1991.** 117-132.
58. Garbett K and Gillard R.D. *J. Chem. Soc. (A).* **1966.** 802-805.
59. Arima K., Yamasaki M and Yasui T. *Agr. Biol. Chem.* **1964.** **28,** [4] 248-254.
60. Kertez, Z. *The Pectin Sustances.* Interscience Publis. Inc. N.Y. **1951.** 9-101, 116-117.
61. Klaus Niemelä and Eero Sjöström. *Carbohydr. Res.* **1985.** **144,** 87-92.
62. Phatak L., Chang K.C and Brown G. *Journal of Food Science.* **1988.** **53,** [3] 830-833.
63. Wicker L., Vassallo M and Echeverria E. *J. of Food Science.* **1988.** **53,** [4] 1171-1174.
64. Pitifer L.A., McLellan M.R & Van Buren J.P. *Food Chemistry.* **1994.** **50,** 29-32.
65. Ihl M., Astete G y Bifani V. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* **1992.** **32,** [2] 185-197.
66. Alexander M and Sulebele G. *J. of Food Science and Tech.* **1980.** **17,** 180-182.
67. Baig M. M., Burgin C. W., Cerda J. J. *J. Agric. Food. Chem.* **1982.** **30,** [4] 768-770.
68. Rianudo M and Ravanat G. *Makromol. Chem.* **1980.** **181,** 1059-1070.
69. Belli-Donini M. L and Stornaiuolo M. R. *Journal of Food Science.* **1969.** **34,** 191-193.
70. Fishman M. L and Jen J. J. *Chemistry and Function of Pectins.* ACS Symposium Series. American Chemical Society. Washington. D.C. USA. **1986.**
71. Fishman M., Gillespie D., Sondey S and Barford R. *J. Agric. Food Chem.* **1989.** **37,** [3] 584-591.
72. Fishman M., Pfeffer P., Barford R and Doner L. *J. Agric. Food Chem.* **1984.** **32,** [2] 372-378.
73. Masamichi Koseki, Naofumi Kitabatake, Etsushiro Doi, Tetsuko Yasuno, Shuzo Ogino, Akiko Ito, and Fusayoshi Endo. *J. of Food Science.* **1986.** **51,** [5] 1329-1332.
74. Méndez, V. M y Almaguer V. G. *El Cultivo del Tejocote. (Crataegus Pubescens) HBK y El Capulin (Prunuserotina Ehrh).* Monografía., Chapingo. Años XIII-XIV [62 - 63] Oct-Dic., **1988.** Ene-Mar. **1989.**
75. Torre M., Rodriguez A and Saura-Calixto F. *J. Agric. Food Chem.* **1992.** **40,** 1762-1766.
76. Jarvis M. C., Threlfall D. R and Friend J. *Phytochemistry.* **1977.** **16,** 849-852.
77. Quingley Michael E and Englyst Hans N. *Analyst.* **1994.** **119,** 1511-1518.
78. Barnier M and Thibault Jean-Francois. *Phytochemistry.* **1982.** **21,** [4] 111-115.
79. Miller J. *Industrial Gums Polysaccharides and Their Derivates.* Edit. Roy L. Whistler. **1992.** 257-293.
80. Sabir M. A., Sosulski F and Campbell S. *J. Agric. Food. Chem.* **1976.** **24,** [2] 348-350.
81. Ashraf M., Khan N., Ahmad M and Elahi M. *J. Agric. Food. Chem.* **1981.** **29,** 526-528.
82. Lodge N., Nguyen T and McIntyre D. *J. of Food Science.* **1987.** **52,** [4] 1095-1096.
83. Watson N. Z and Green N. R. *Journal of Food Science.* **1983.** **48,** 1008-1009.
84. Belo P. S. Jr and De Lumen B. O. *J. Agric. Food. Chem.* **1981.** **29,** [2] 370-373.
85. Kintner P. K., III and Van Buren J. P. *Journal of Food Science.* **1982.** **47,** 756-764.
86. *Pectins, Food Science and Technology. A series of monographs. Gum Technology in the Food Industry.* **1969.** Cap. 6, 159-190.
87. Glicksman Martin (ed) *Pectins. Food Hydrocolloids.* **1973.** 4-15 y 206-230.
88. Albersheim P and Killias U. *Archives of Biochem. and Biophysic.* **1962.** **97,** 107-115.
89. Hoagland P. D. *J. Agric. Food Chem.* **1989.** **37,** [5] 1343-1347.
90. Plöger Annette. *Food Science.* **1985.** **57,** [5] 1185-1186.
91. Pedroza-Islas R., Aguilar-Esperanza E and Vernon-Carter E. *Processing. Enviromentally Responsible Food Processing.* AICHE Symposium Series No. 300 **1994.** **90,** 36-41.
92. Pressey R., Hinton D and Avants K. *Journal of Food Science.* **1971.** **36,** 1070-1072.
93. McFeeters R., Fleming H and Thompson R. *Journal of F. Science.* **1985.** **50,** 201-205.
94. McCready R and Reeve R. *Agricultural and Food Science.* **1955.** **3,** [3] 260-262.
95. McCready R., Owens H., Shepherd A and Maclay W. *Industrial and Engineering Chemistry.* **1946.** **13,** [12] 1254-1256.
96. McReady R., Shepherd A., Swenson H., Eriandsen R and Maclay W. *Analitical Chemistry.* **1951.** **23,** [7]

975-977.

97. Boos R., Merck & Co., Inc., Rahway, N.J. Analytical Chemistry. **1948. 20**, [10] 964-965.
98. Baker Robert A. J. Agric. Food. Chem. **1979. 27**, [6] 1387-1389.
99. Jordan Robert C and Brant David A. Biopolymers. **1978. 17**, 2885-2895.
100. Johnson R. M and Breene W. M. Food Technology. **1988**. February, 87-93.
101. Rolin Claus and De Vries Joop. *Elsevier Applied Food Science Series*. (Food Sciences, Food gels. Pectins. **1990**. Cap. 10. 401-434. Edit by Peter Horris.
102. Rolin Claus. Pectin Industrial Gums. Polissacarides and their derivates. Academic Press. Inc. **1992**. Cap. 10.257-293 Whistler. Ray (Ed) USA.
103. Iranzo R., Niño L y Grima R. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. **1977. 17**, [1] Marzo 79 - 86.
104. Sajjaanantakul T., Van Buren J and Downing D. Journal of Food Science. **1989. 54**, [5] 1272-1276.
105. Black S. A and Smit C.J.B. Journal of Food Science. **1972. 37**, 726-727.
106. Reiser Sheldon. Food Technology. **1987**. February, 91-99.
107. Simpson, B.K. Journal of Food Proc. Preservation. **1984. 2**, 63-72.
108. Sáenz S., Villarroel P., Parraguirre V., Pennacchiotti I. Alimentos. **1990. 15**, [4] 5-8.
109. Platt S and Clydesdale F. Journal of Food Science. **1987. 52**, [5] 1414-1419.
110. Cooper T. G. The Tools of Biochemistry. A Wiley Intersaend Publication. John Wiley & Sons. New York. **1977**. Cap. 5, 169-193.
111. Thibault Jean-François and M. Rinaudo. American Chemical Society. **1986**.
112. Haas U and Jäger M. Journal of Food Science. **1986. 51**, [4] 1087-1088.
113. Vertalier y Martin. Chimie Analytique. **1958. 4**, [80].
114. Kim W., Sosulski F and Campbell S. Journal of Food Science. **1978. 43**, 746-749.
115. Waterlow John C. Cuaderno de Nutrición. **1991. 14**, 1-3. 17-32.
116. Williams, Bryan L y Wilson Reith L. Principios y Técnicas de Bioquímica Experimental. Ediciones Omega. Barcelona. **1981**. 270.
117. Monte W. C and Maga J. A. Journal Agric. Food. Chem. **1980. 28**, [6] 1169-1174.
118. Yuan K. Liu and Bor S. Luh. Journal of Food Science. **1980. 45**, 600-604.
119. Kertesz Z. I. The Pectic Substances. Interscience Publishers, Inc. N. Y. **1951**. 456.
120. Zemansky, Mork. Heatard Thermodynamics. 1986. 4ª. Ed. USA.

ANEXOS 1
CÁLCULO TEÓRICO Y DATO
EXPERIMENTAL DE LA TEMPERATURA
QUE ALCANZA EL HORNO DE
MICROONDAS EMPLEADO PARA
SECAR LA PULPA DE TEJOCOTE

DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DEL HORNO.

Características del Horno: Horno de microondas marca Daytron. Modelo KOR-100H. Dimensiones Externas: 500(A) X380(P)X319(H)mm. Dimensiones Internas: 372(A)X350(P)X215(H)mm. Dimensiones de Volumen: 1ft³, Peso: ≈ 17Kg. ó 7.71 lb. Timer: digital 99'99".

Suministro de Energía 120V Ac 69 Hz. Consumo de Energía: 1300 W.

Salida de Energía: 800 W. Frecuencia de microondas: 2450 MHz.

Con estos datos se procedió a calcular la temperatura del horno.

CÁLCULOS:

Empleando la ecuación para calcular la energía de una partícula: $E = hv$, sabiendo que la constante de Planck tiene el valor: $h = 6.6252 \times 10^{-34} \text{ J s}$ y tomando el valor de la frecuencia de la radiación de microondas que es de 2450 MHz, que equivale a $2450 \times 10^6 \text{ Hz}$ o s^{-1} , tenemos que:

$$E = 6.6252 \times 10^{-34} \text{ J s} (2450 \times 10^6 \text{ s}^{-1}) = 1.623174 \times 10^{-24} \text{ J}$$

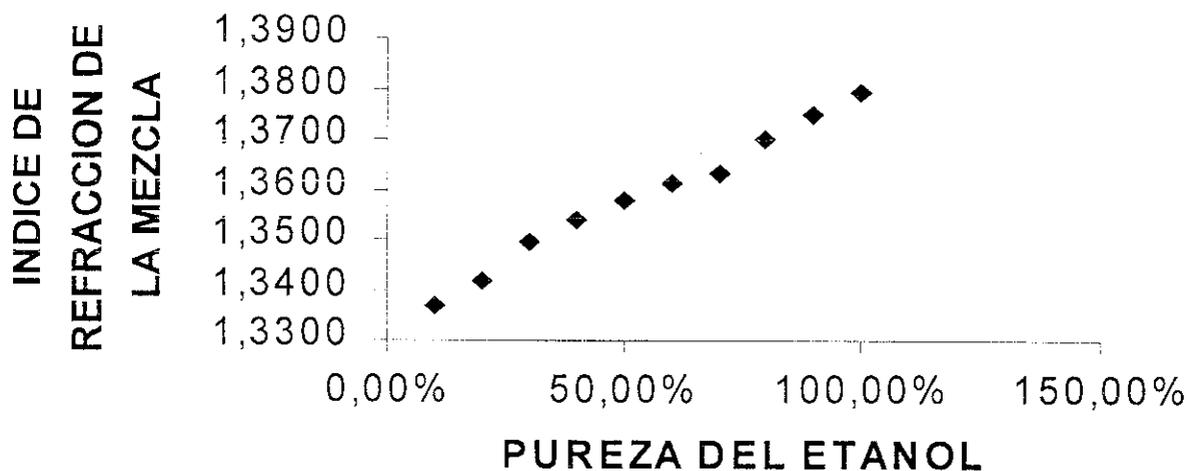
Sabemos que la energía de un grado Kelvin es de $1.38 \times 10^{-23} \text{ J}$, entonces la temperatura de la energía que tiene la emisión del horno de microondas empleado es de: 0.1176213 K, que equivale a 32.11 °C.

El promedio de las determinaciones experimentales se muestra a continuación:

| TEMPERATURA EXPERIMENTAL DETERMINADA POR UN TERMOPAR | |
|--|-------|
| Temperatura (C) promedio de 10 determinaciones (t calentamiento: 1') | 32.05 |

ANEXO 2
TABLA DE ÍNDICES DE REFRACCIÓN
PARA VERIFICAR LA PUREZA DEL
ALCOHOL RECUPERADO POR
DESTILACIÓN FRACCIONADA Y
DIFRACTOGRAMA INICIAL PARA EL
SEGUIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES
Y CURVAS DE VALORACIÓN
POTENCIOMÉTRICAS

RELACION ENTRE EL INDICE DE REFRACCION Y LA PUREZA DEL ETANOL RECUPERADO



| PUREZA | INDICE DE REFRACCION |
|---------|----------------------|
| 10,00% | 1,3367 |
| 20,00% | 1,3416 |
| 30,00% | 1,3493 |
| 40,00% | 1,3539 |
| 50,00% | 1,3580 |
| 60,00% | 1,3610 |
| 70,00% | 1,3632 |
| 80,00% | 1,3700 |
| 90,00% | 1,3751 |
| 100,00% | 1,3795 |

A continuación se presenta una curva de valoración potenciométrica de pectina cítrica:

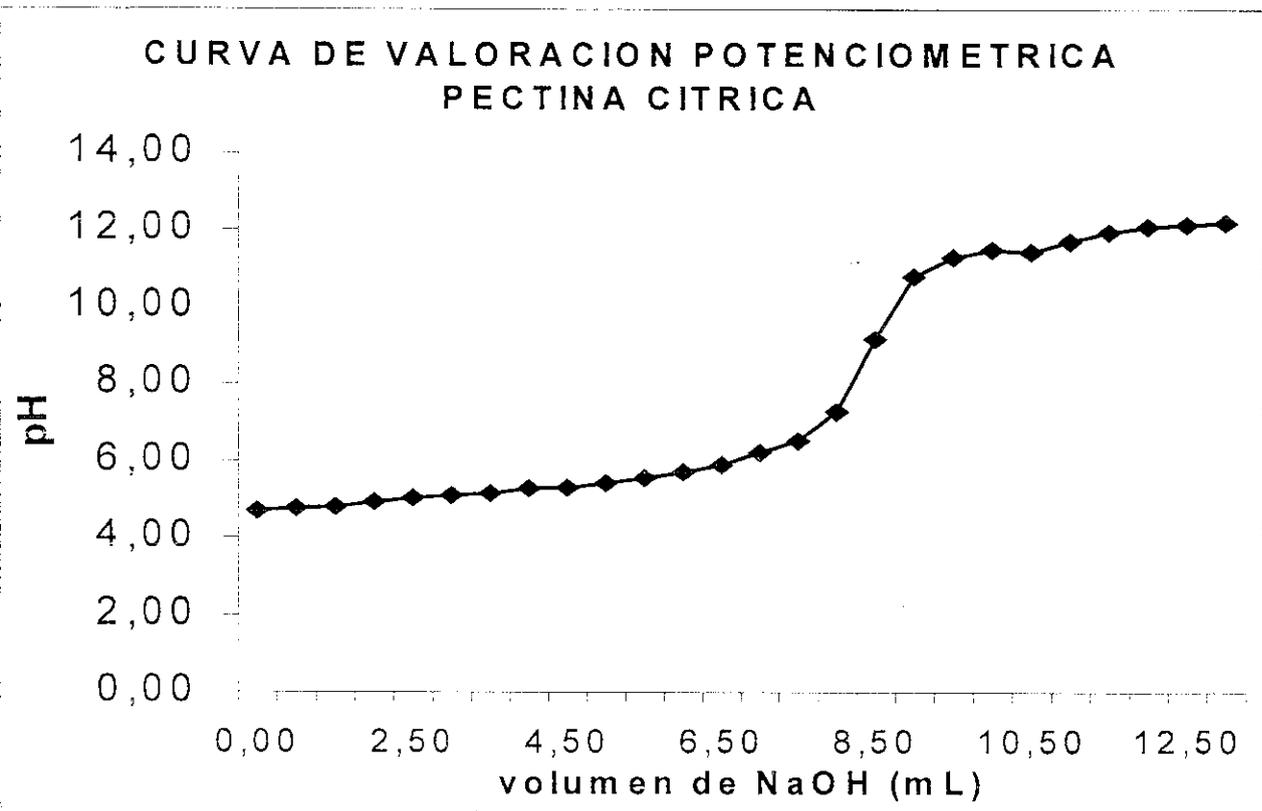
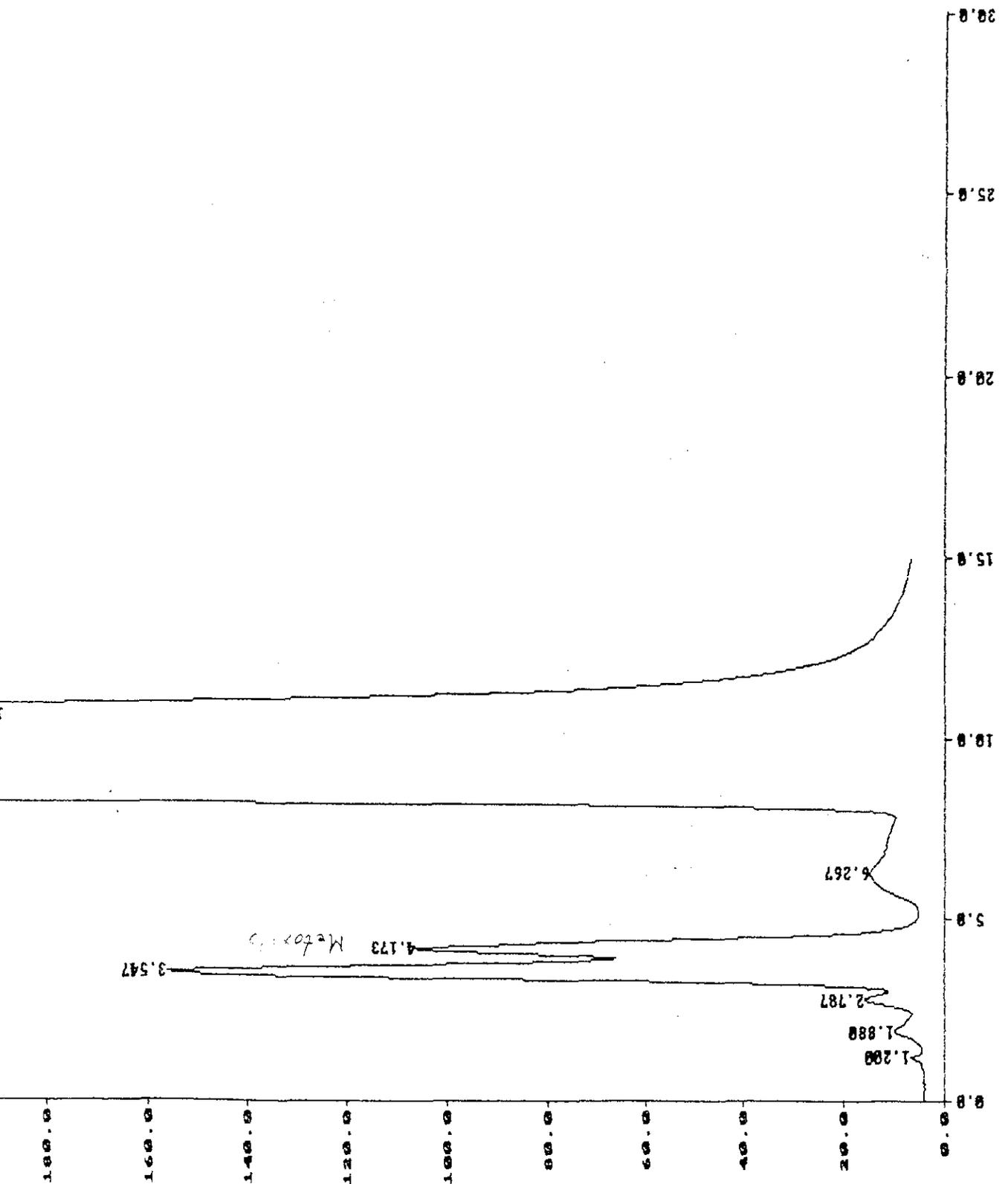


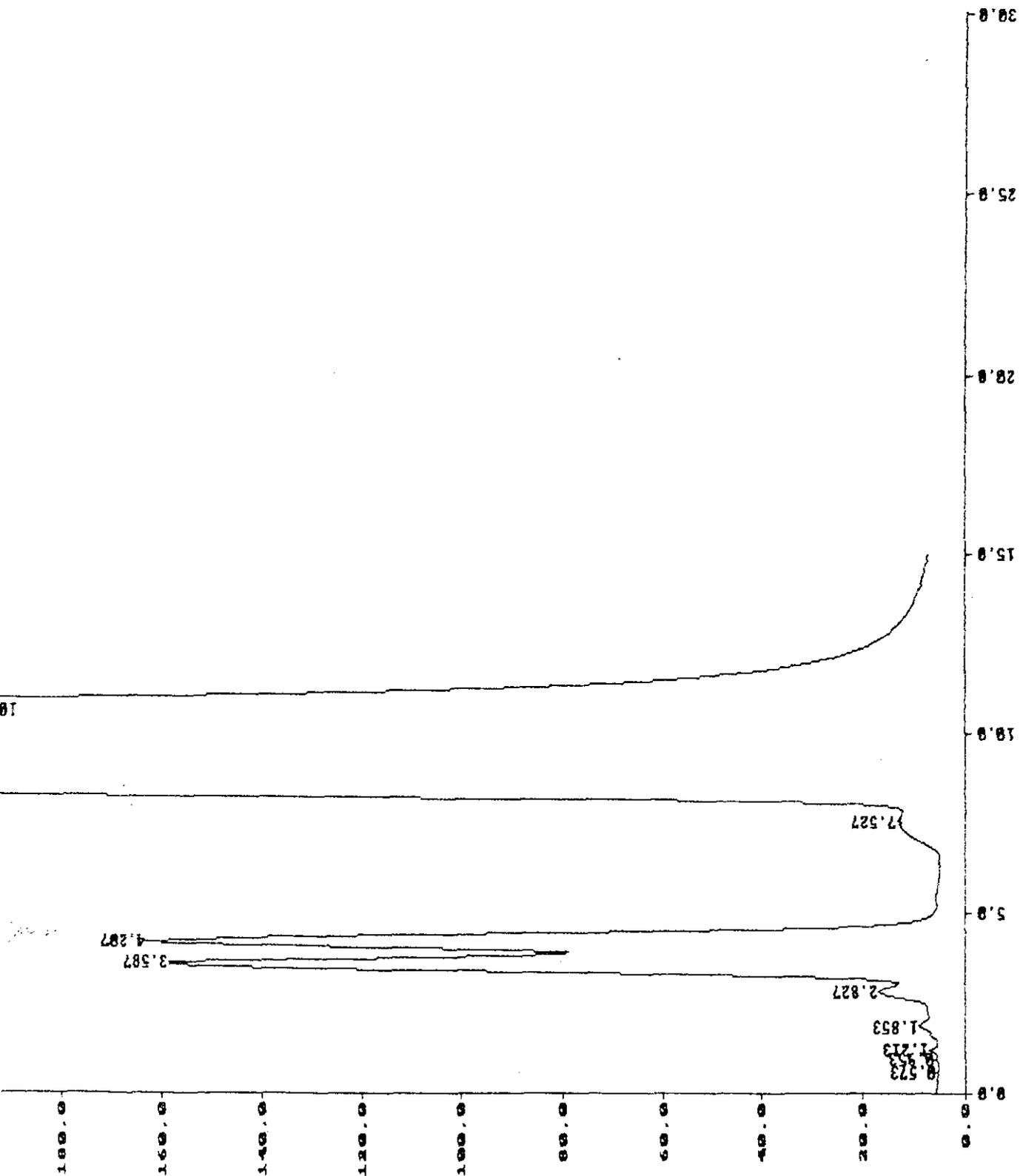
TABLA VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE LA PECTINA CÍTRICA

| | | | | | | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| pH | 4,70 | 4,77 | 4,80 | 4,93 | 5,03 | 5,10 | 5,15 | 5,28 | 5,30 |
| V (mL) | 0,00 | 1,00 | 1,50 | 2,00 | 2,50 | 3,00 | 3,50 | 4,00 | 4,50 |
| pH | 5,42 | 5,55 | 5,71 | 5,90 | 6,22 | 6,52 | 7,27 | 9,16 | 10,80 |
| V (mL) | 5,00 | 5,50 | 6,00 | 6,50 | 7,00 | 7,50 | 8,00 | 8,50 | 9,00 |
| pH | 11,30 | 11,50 | 11,44 | 11,71 | 11,96 | 12,10 | 12,15 | 12,20 | |
| V (mL) | 9,50 | 10,00 | 10,50 | 11,00 | 11,50 | 12,00 | 12,50 | 13,00 | |



(METOXIN.DAT) MU

Run : 02
 File : METOXIN.DAT
 M-70 49.20 mg
 Collection : 17:55:28 Sep 30 1994 Method : DETMULT [15:47:45 Sep 30 1994]
 Type : Sample
 L-29



(MITOX108.D01) (M)

File : MITOX108.D01
 Run : 01
 Collection : 18:16:28 Sep 08 1994 Method : DEFAULT [15:47:45 Sep 08 1994]
 Type : Sample
 CONM100KX10 L-39
 STD 11.08167MG

ANEXO 4

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Muestra 1. Pectina extraída de pulpa de tejocote, variedad H con agua, 0.1132g/100ml.

| Tiempo de Retención | Peso Molecular |
|---------------------|----------------|
| 4.76 | 965153.8 |
| 5.76 | 797977.6 |
| 6.54 | 667580.2 |

Muestra 2. Pectina de tejocote, variedad H, extraída con ácido oxálico, .1037g/500ml.

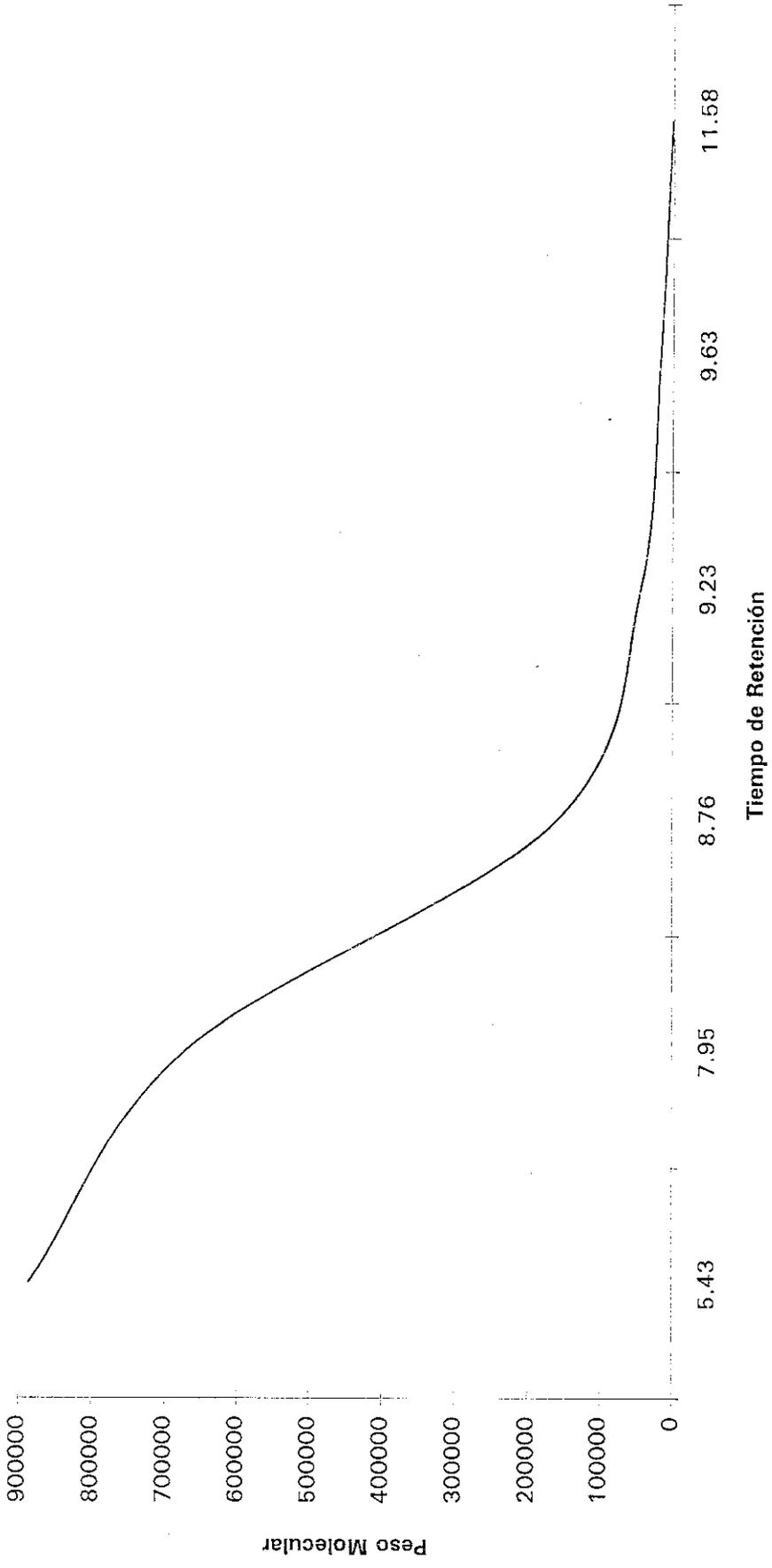
| Tiempo de Retención | Peso Molecular |
|---------------------|----------------|
| 5.53 | 836428.1 |
| 6.35 | 699343.6 |
| 5.63 | 819710.5 |
| 6.43 | 685969.5 |
| 6.66 | 647519.0 |
| 6.73 | 635816.7 |
| 11.71 | 1073.9 |

Muestra 3. Pectina esterificada, 0.1212g/100ml.

| Tiempo de Retención | Peso Molecular |
|---------------------|----------------|
| 4.94 | 935062.1 |
| 5.52 | 838.099.9 |
| 14.38 | 80.2 |

Muestra 4. Pectina cítrica, 0.11g/100ml

| Tiempo de Retención | Peso Molecular |
|---------------------|-----------------|
| 4.04 | ##### 1085521.0 |
| 4.7 | 975184.4 |



DEVICE
01

SAMPLE
883

METHOD
METHOD1

TIME
03:23:39

DATE
00:00:00



RUN TIME 9.58

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|-------------|---------|
| 4.76 | 161344 | 82.73626993 | |
| 5.76 | 10769 | 5.52280908 | |
| 6.54 | 22897 | 11.74144915 | |
| TOTAL | 195010 | 100.0000000 | |

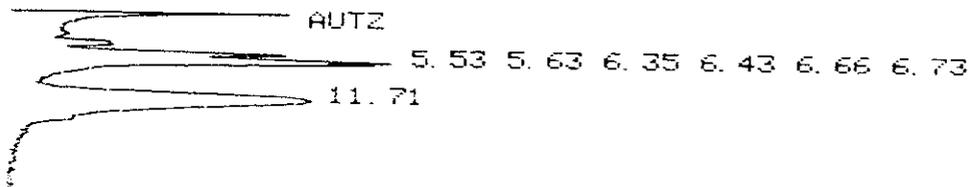
DEVICE
01

SAMPLE
775

METHOD
METHOD1

TIME
03:10:02

DATE
00:00:00



RUN TIME 24.53

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|-------------|---------|
| 5.53 | 84542 | 9.388993531 | |
| 5.63 | 56383 | 6.261772336 | |
| 6.35 | 125275 | 13.91279142 | |
| 6.43 | 65646 | 7.290407989 | |
| 6.66 | 35276 | 3.917744687 | |
| 6.73 | 72727 | 8.076822268 | |
| 11.71 | 460567 | 51.15046822 | |
| TOTAL | 900416 | 99.99900046 | |

DEVICE 01 SAMPLE 772 METHOD METHOD1 TIME 02:05:28 DATE 00:00:00



RUN TIME 18.52

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|---------|-------------|---------|
| 4.94 | 952408 | 87.36026505 | |
| 5.52 | 22508 | 0.206386232 | |
| 14.38 | 135531 | 12.43188107 | |
| TOTAL | 1090189 | 99.99853236 | |

DEVICE 01 SAMPLE 773 METHOD METHOD1 TIME 02:24:58 DATE 00:00:00



RUN TIME 18.44

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|-------------|---------|
| 4.04 | 387531 | 56.21242583 | |
| 4.70 | 239542 | 43.78538147 | |
| TOTAL | 547073 | 99.99780658 | |

MPH : TER GEL G5000 PW X L, 10 μ, 30cm X 2.5mm
(TOSC HAAS)

Flow: H₂O
Flow rate: 1 ml/min
Detection: UV, λ 192nm

NOCCAPROKLEAF DE USV'000 LDC PHARMUT/PL

DEVICE 01 SAMPLE 923 METHOD METHOD1 TIME 02:29:45 DATE 00:00:00



RUN TIME 18.05

DEFAULT 0

| NORMALIZATION METHOD USING AREA | | | | |
|---------------------------------|--------|-------------|---------|--|
| TIME | AREA | %AREA | PK NAME | |
| 4.28 | 146998 | 99.99727887 | | |
| TOTAL | 146998 | 99.99727887 | | |

DEVICE 01 SAMPLE 926 METHOD METHOD1 TIME 03:28:16 DATE 00:00:00



RUN TIME 14.92

DEFAULT 0

| NORMALIZATION METHOD USING AREA | | | | |
|---------------------------------|--------|-------------|---------|--|
| TIME | AREA | %AREA | PK NAME | |
| 4.21 | 194632 | 40.83117428 | | |
| 5.00 | 282043 | 59.16714742 | | |
| TOTAL | 476675 | 99.99832178 | | |

DEVICE 01 SAMPLE 924 METHOD METHOD1 TIME 02:50:47 DATE 00:00:00



RUN TIME 19.98

DEFAULT 0

| NORMALIZATION METHOD USING AREA | | | | |
|---------------------------------|--------|-------------|---------|--|
| TIME | AREA | %AREA | PK NAME | |
| 4.34 | 521558 | 100.0000000 | | |
| TOTAL | 521558 | 100.0000000 | | |

DEVICE
01

SAMPLE
925

METHOD
METHOD1

TIME
03:12:11

DATE
00:00:00

AUTZ

4.35

RUN TIME 14.33

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|-------------|---------|
| 4.35 | 389360 | 100.0000000 | |
| TOTAL | 389360 | 100.0000000 | |

COLUMN: PL AQUAGEL-OH 40, 8 μ , 300 x 7.5 mm

MOBILE: H₂O

FLOW: 1 ml/min

DETECTION: UV, 193 nm

INJECTION: 100.0000000

| DEVICE | SAMPLE | METHOD | TIME | DATE |
|--------|--------|---------|------------|------------|
| 01 | 883 | METHOD1 | 03: 23: 39 | 00: 00: 00 |

AUTZ

 4.76 5.76 6.54

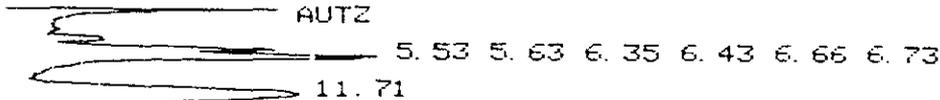
RUN TIME 9.58

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|-------------|---------|
| 4.76 | 161344 | 82.73626993 | |
| 5.76 | 10769 | 5.522280908 | |
| 6.54 | 22897 | 11.74144915 | |
| TOTAL | 195010 | 100.0000000 | |

| DEVICE | SAMPLE | METHOD | TIME | DATE |
|--------|--------|---------|------------|------------|
| 01 | 775 | METHOD1 | 03: 10: 02 | 00: 00: 00 |

AUTZ

 5.53 5.63 6.35 6.43 6.66 6.73
 11.71

RUN TIME 24.53

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | P | %AREA | PK NAME |
|-------|--------|---|-------------|---------|
| 5.53 | 84542 | P | 9.388993531 | |
| 5.63 | 56383 | P | 6.261772336 | |
| 6.35 | 125275 | P | 13.91279142 | |
| 6.43 | 65646 | P | 7.290407989 | |
| 6.66 | 35276 | P | 3.917744687 | |
| 6.73 | 72727 | | 8.076822268 | |
| 11.71 | 460567 | | 51.15046822 | |
| TOTAL | 900416 | | 99.99900046 | |

DEVICE 01 SAMPLE 772 METHOD METHOD01 TIME 02:05:28 DATE 00:00:00



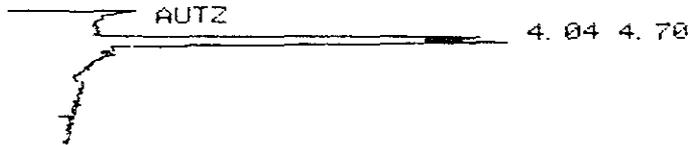
RUN TIME 18.52

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|---------|-------------|---------|
| 4.94 | 952408 | 87.36026505 | |
| 5.52 | 2250 S | 0.206386232 | |
| 14.38 | 135531 | 12.43188107 | |
| TOTAL | 1090189 | 99.99853236 | |

DEVICE 01 SAMPLE 773 METHOD METHOD01 TIME 02:24:58 DATE 00:00:00



RUN TIME 18.44

DEFAULT 0

NORMALIZATION METHOD USING AREA

| TIME | AREA | %AREA | PK NAME |
|-------|----------|-------------|---------|
| 4.04 | 307531 P | 56.21242503 | |
| 4.70 | 239542 | 43.78538147 | |
| TOTAL | 547073 | 99.99780650 | |

COLUMNA : TSK GEL G5000 PW X L, 10 μ, 30cm X 7.8mm
(TOSO HAAS)

M: H₂O

VELOCIDAD FLUJO : 1 ml/min

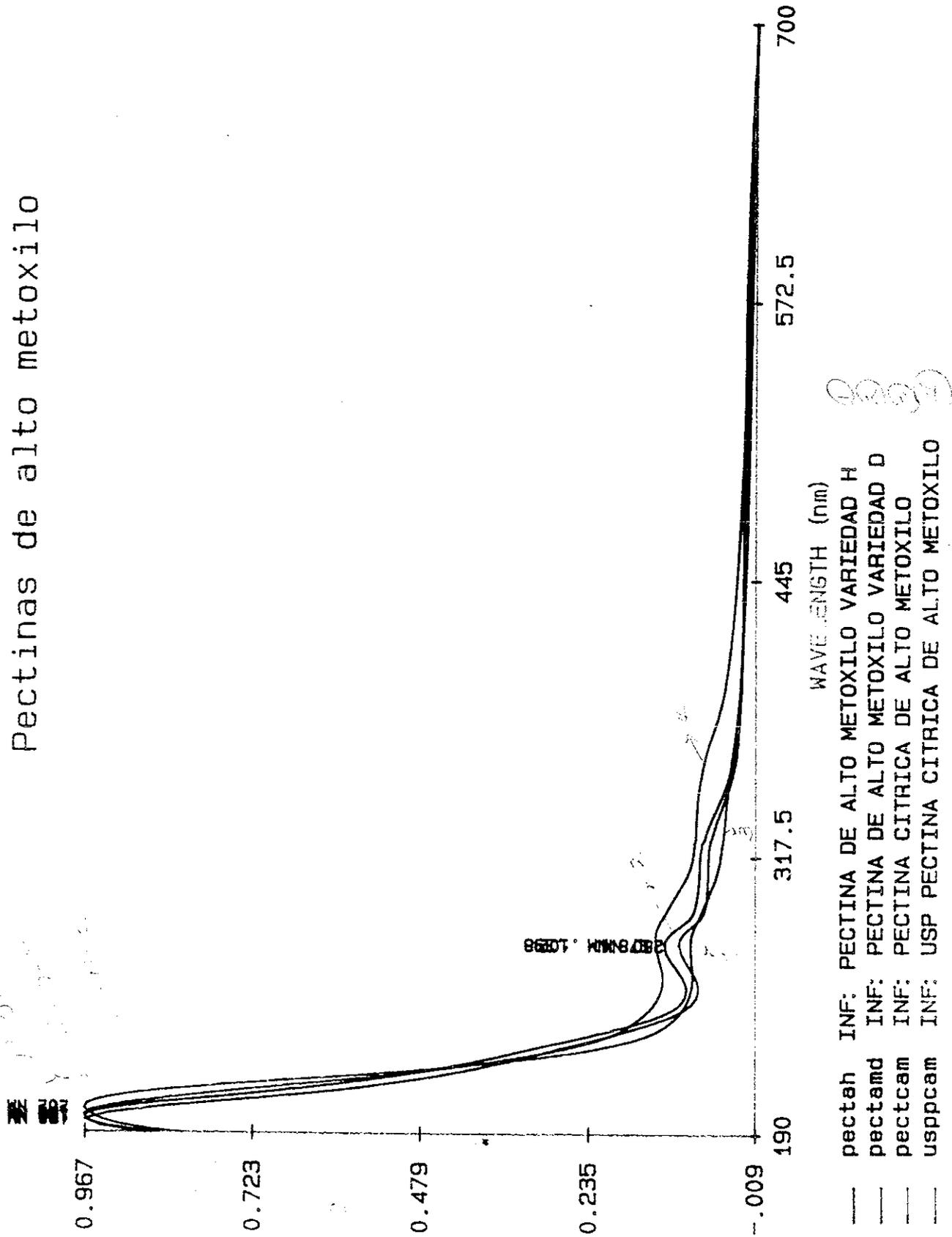
DETECCION : UV. @ 192nm

CRONOMETRAJO DE 400000 LDC ANALITICA

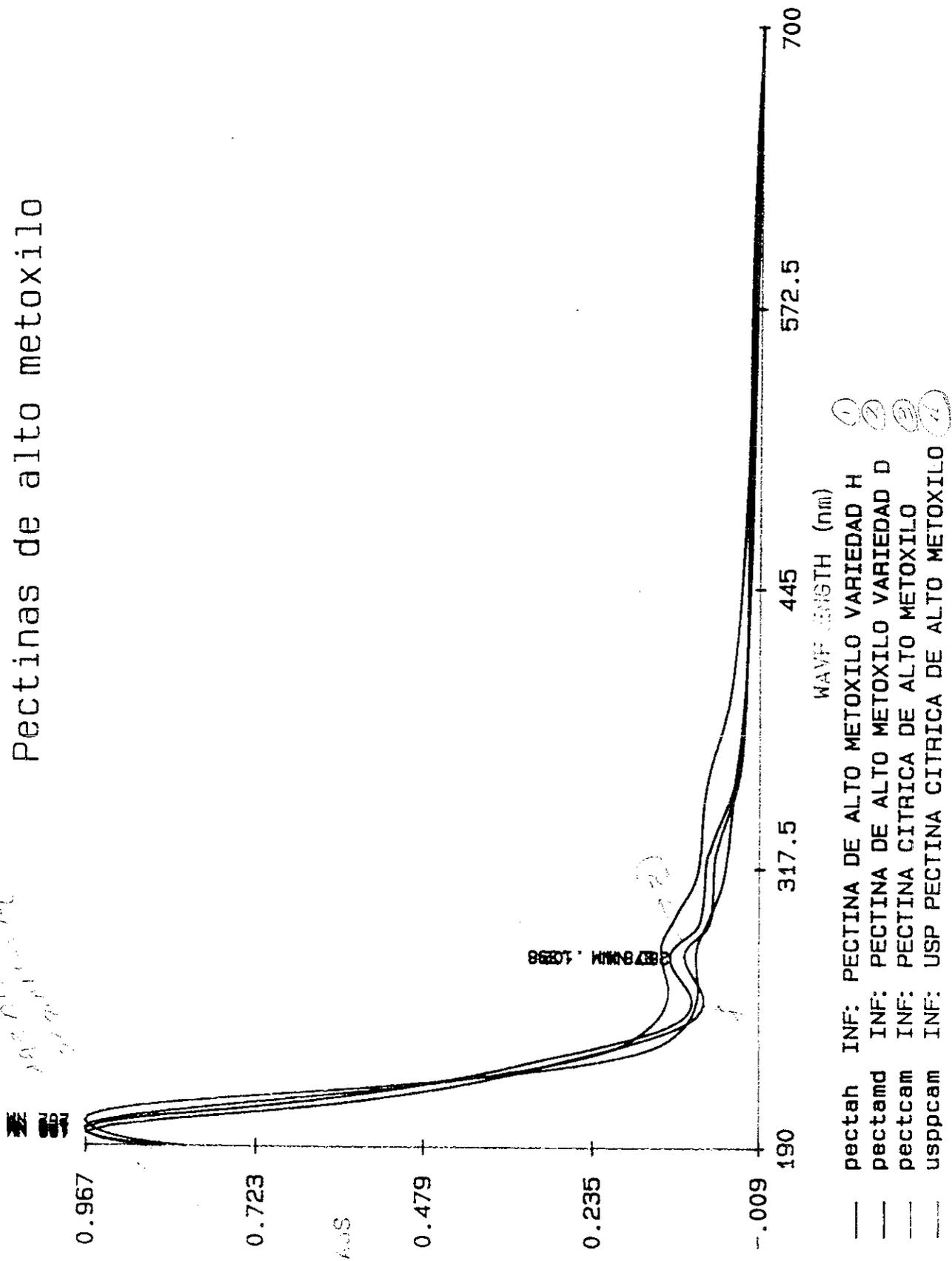
ANEXO 5

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE

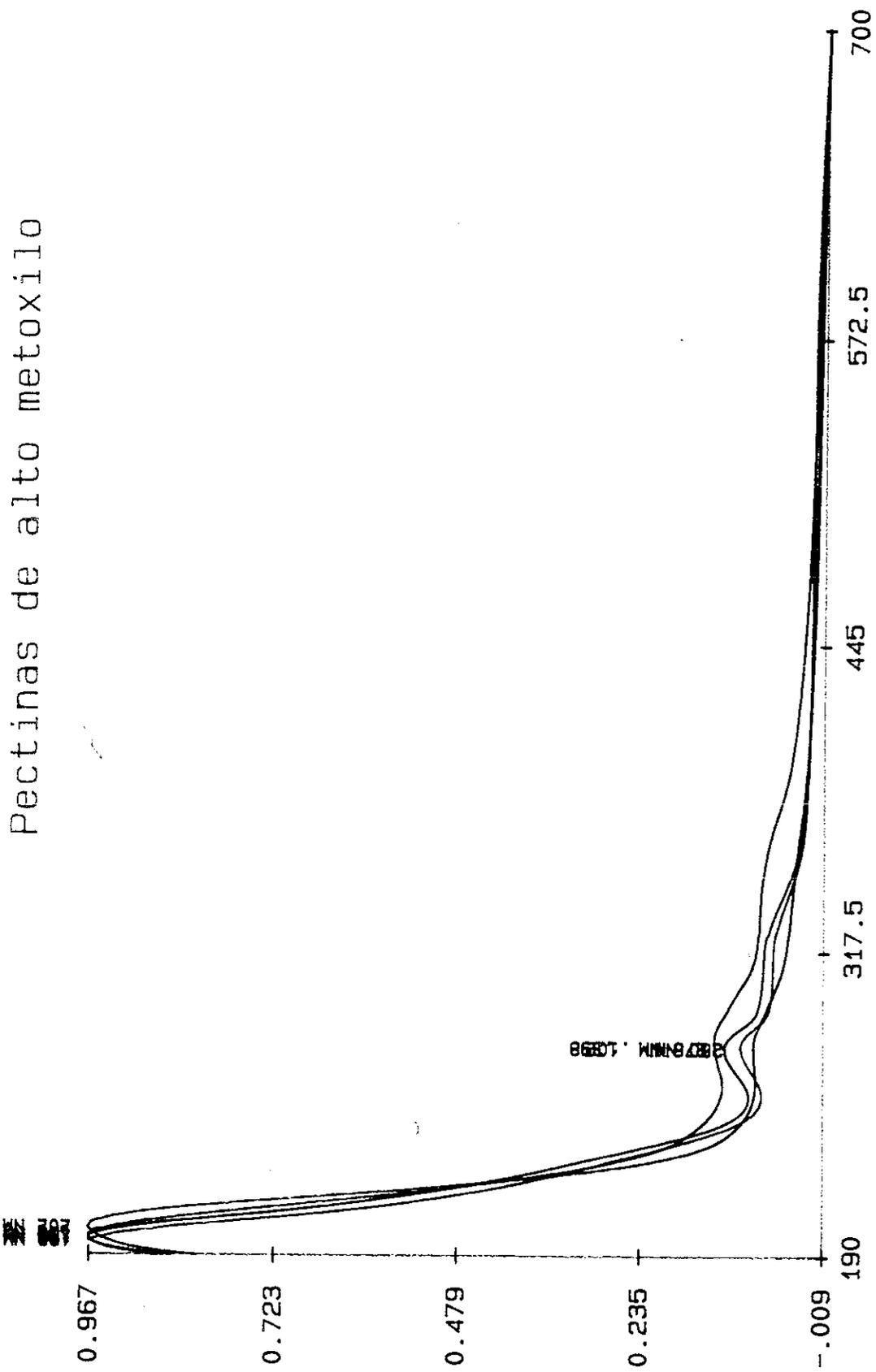
Pectinas de alto metoxilo



Pectinas de alto metoxilo

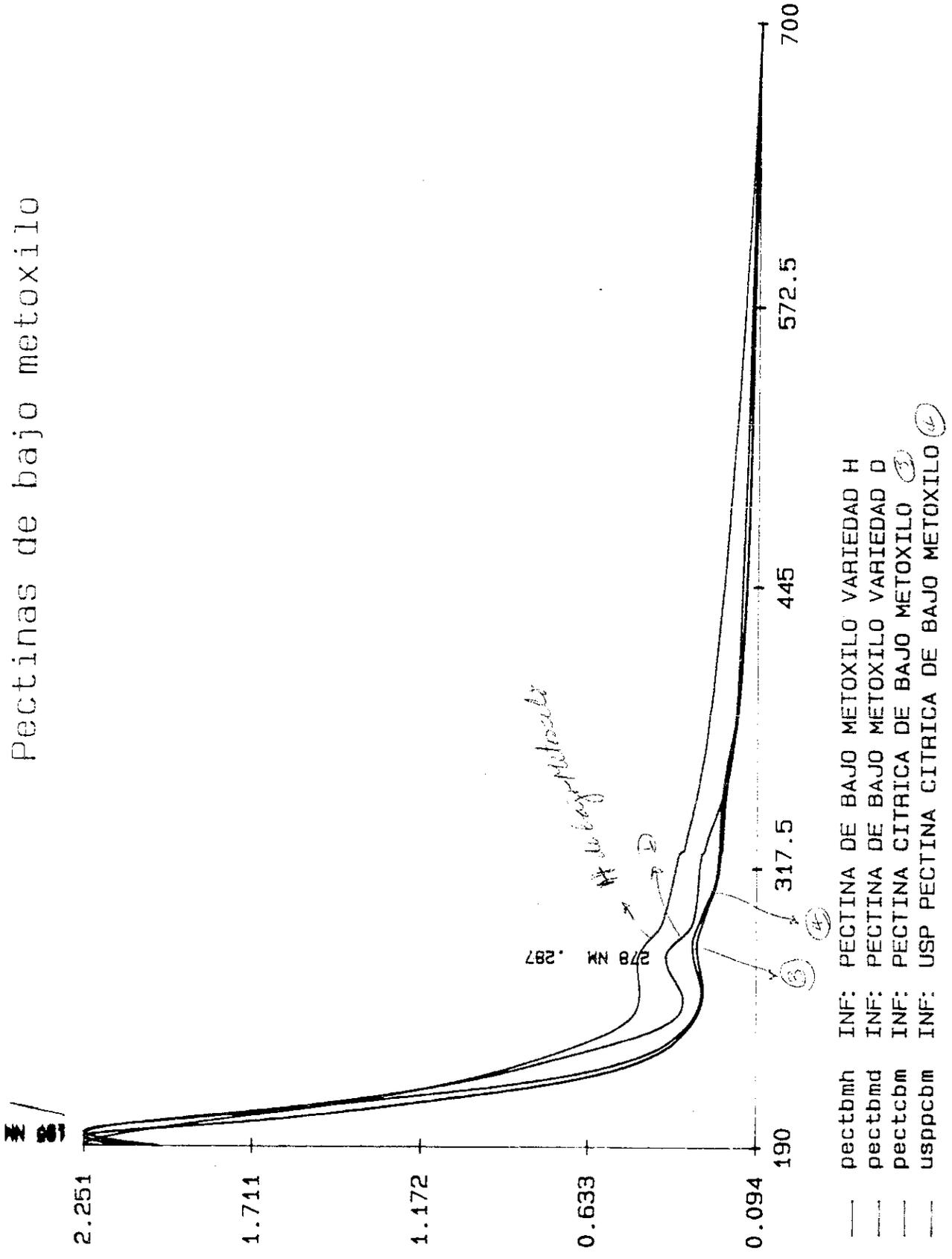


Pectinas de alto metoxilo



- pectah INF: PECTINA DE ALTO METOXILO VARIEDAD H
- pectamd INF: PECTINA DE ALTO METOXILO VARIEDAD D
- pectcam INF: PECTINA CITRICA DE ALTO METOXILO
- usppcam INF: USP PECTINA CITRICA DE ALTO METOXILO

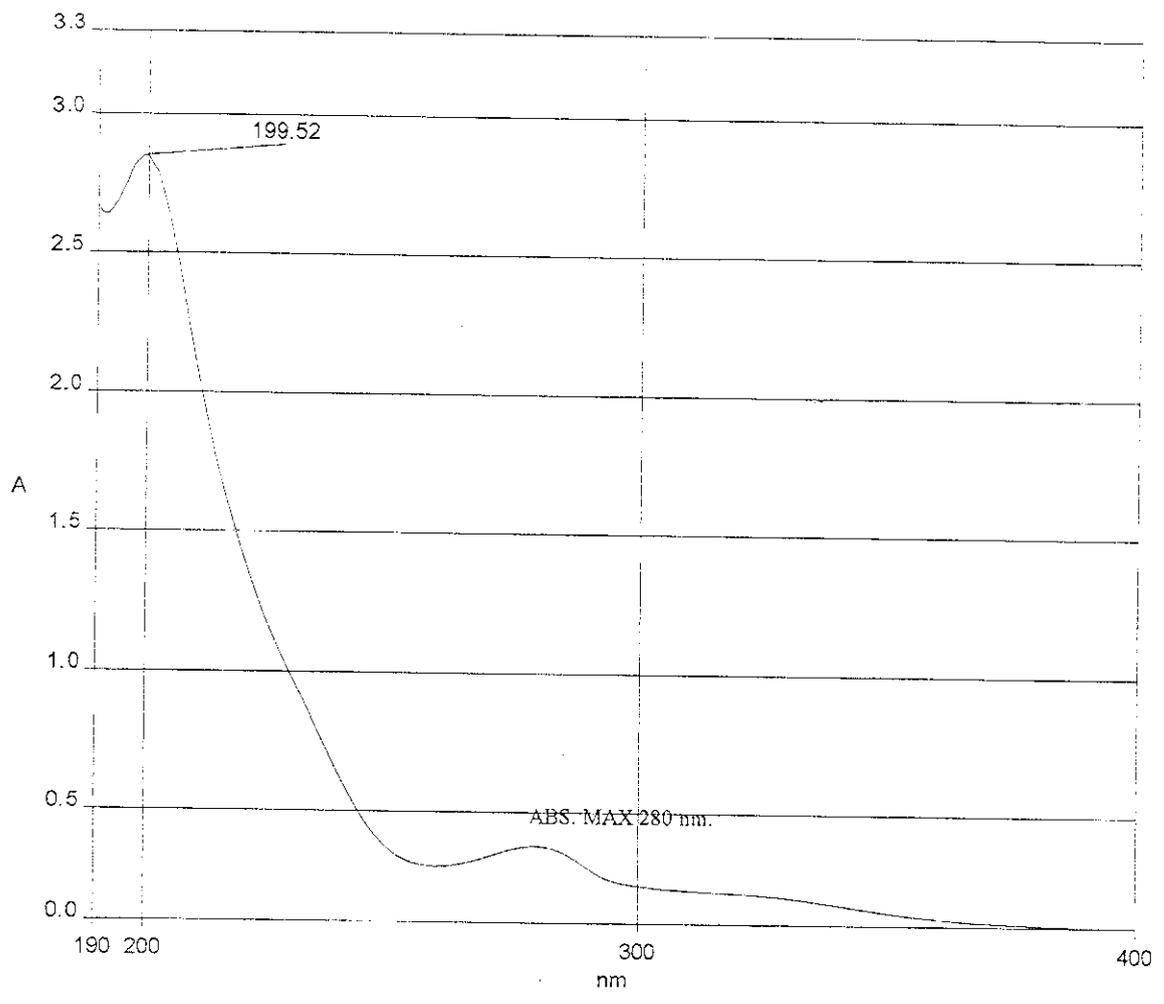
Pectinas de bajo metoxilo



- pectbmh INF: PECTINA DE BAJO METOXILO VARIEDAD H
- - - pectbmd INF: PECTINA DE BAJO METOXILO VARIEDAD D
- ... pectcbm INF: PECTINA CITRICA DE BAJO METOXILO (3)
- · - usppcbm INF: USP PECTINA CITRICA DE BAJO METOXILO (4)

Date: 24/09/96

Time: 11:44:30 AM



Description:

Spectrum Name: PECTINA..SP

Scan Speed: 240.00 nm/min

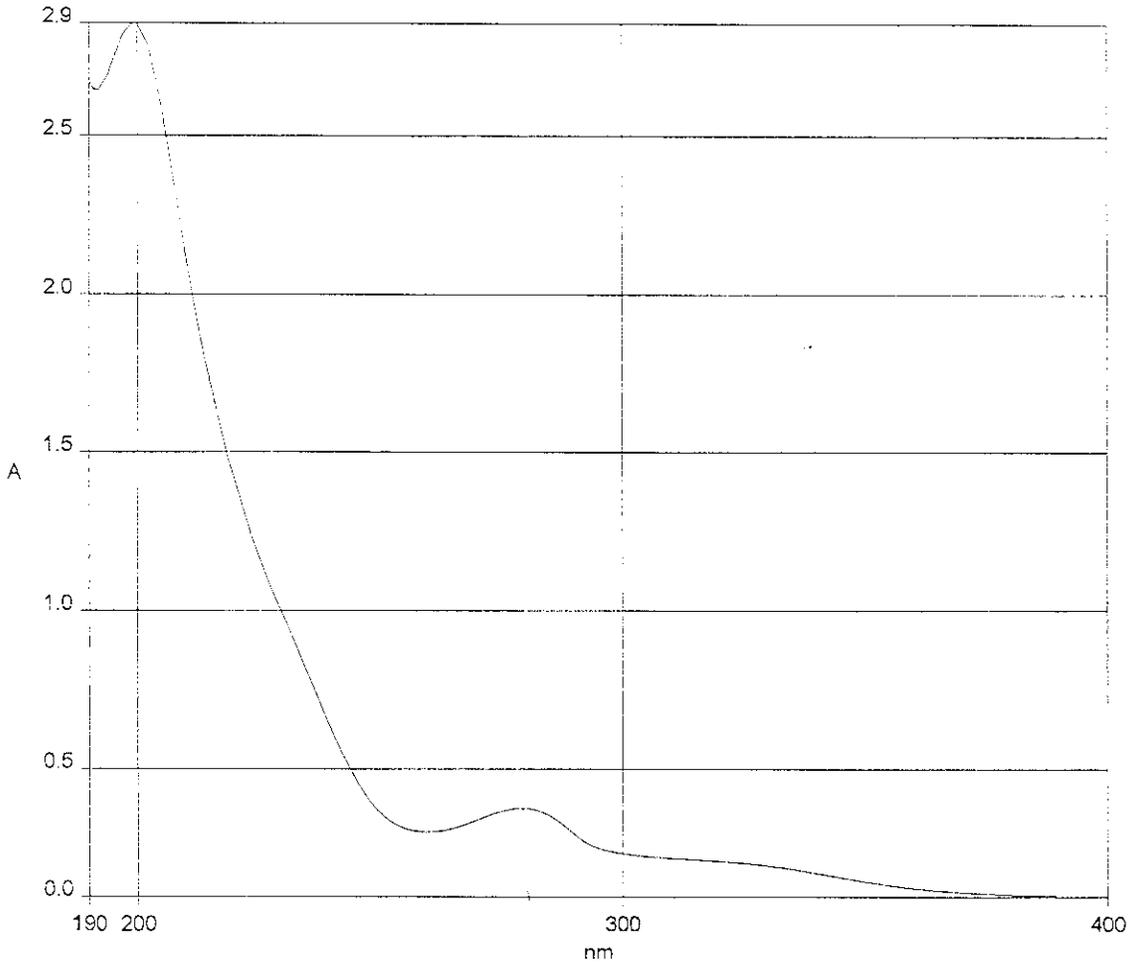
Date Created: 24/09/96 11:28:19 AM

Slit Width: 2.00 nm

Instrument Model: Lambda 18

Smooth Bandwidth: 2.00 nm

Data Interval: 1.00 nm



Description:

Spectrum Name: C:\UVWINLAB\DATA\PIPO\PECTINAA.SP

Scan Speed: 240.00 nm/min

Date Created: 24/09/96 11:28:19 AM

Slit Width: 2.00 nm

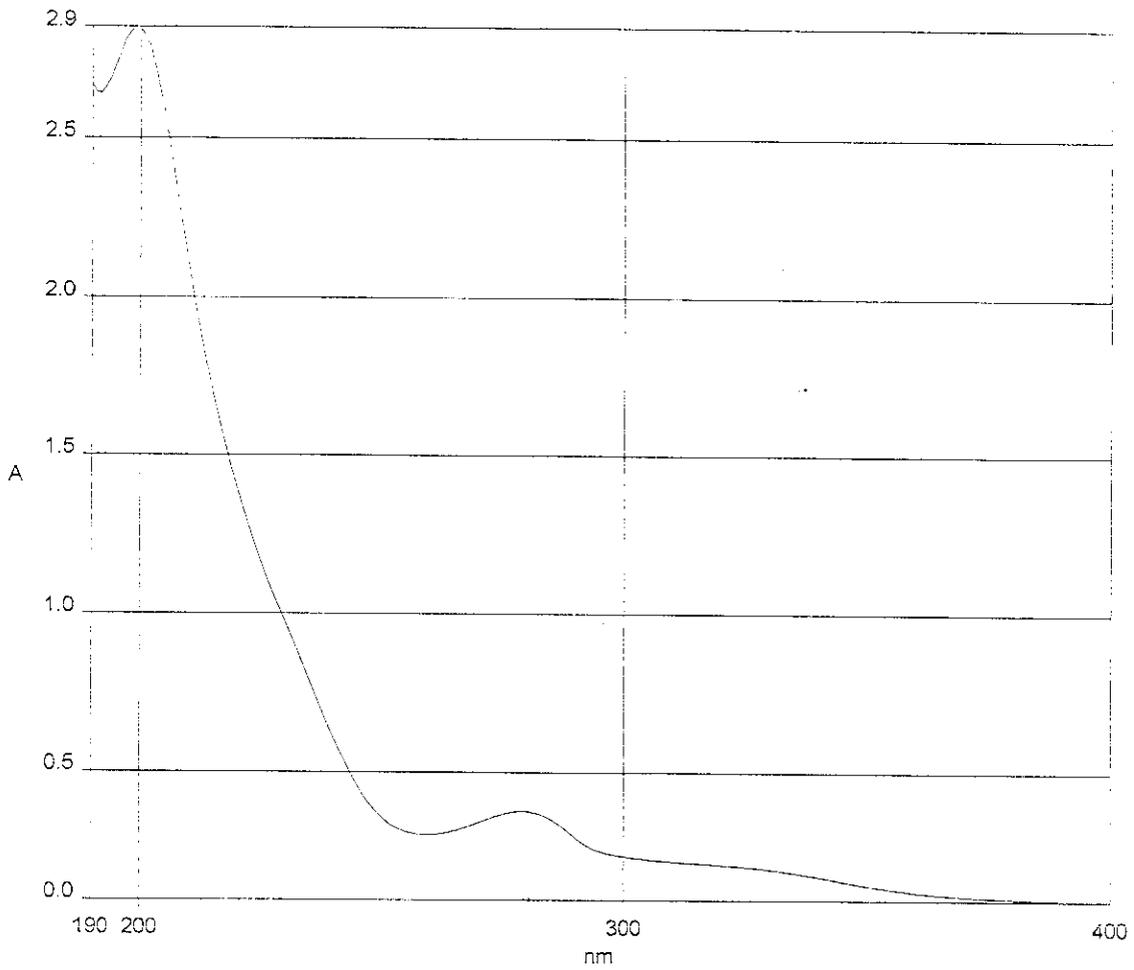
Instrument Model: Lambda 18

Smooth Bandwidth: 2.00 nm

Data Interval: 1.00 nm

Date: 7/10/96

Time: 11:00:51 AM



Description:

Spectrum Name: A:\PECTINAA.TXT

Scan Speed: 240.00 nm/min

Date Created: 24/09/96 11:28:19 AM

Slit Width: 2.00 nm

Instrument Model: Lambda 18

Smooth Bandwidth: 2.00 nm

Data Interval: 1.00 nm

100.0
99.5
99.0
98.5
98.0
97.5
97.0
96.5
96.0
95.5
95.0
94.5
94.0
93.5
93.0
92.5
92.0
91.5
91.0
90.5
90.0
89.5
89.0
88.5
88.0
87.5
87.0
86.5
86.0
85.5
85.0
84.5
84.0
83.5
83.0
82.5
82.0
81.5
81.0
80.5
80.0
79.5
79.0
78.5
78.0
77.5
77.0
76.5
76.0
75.5
75.0

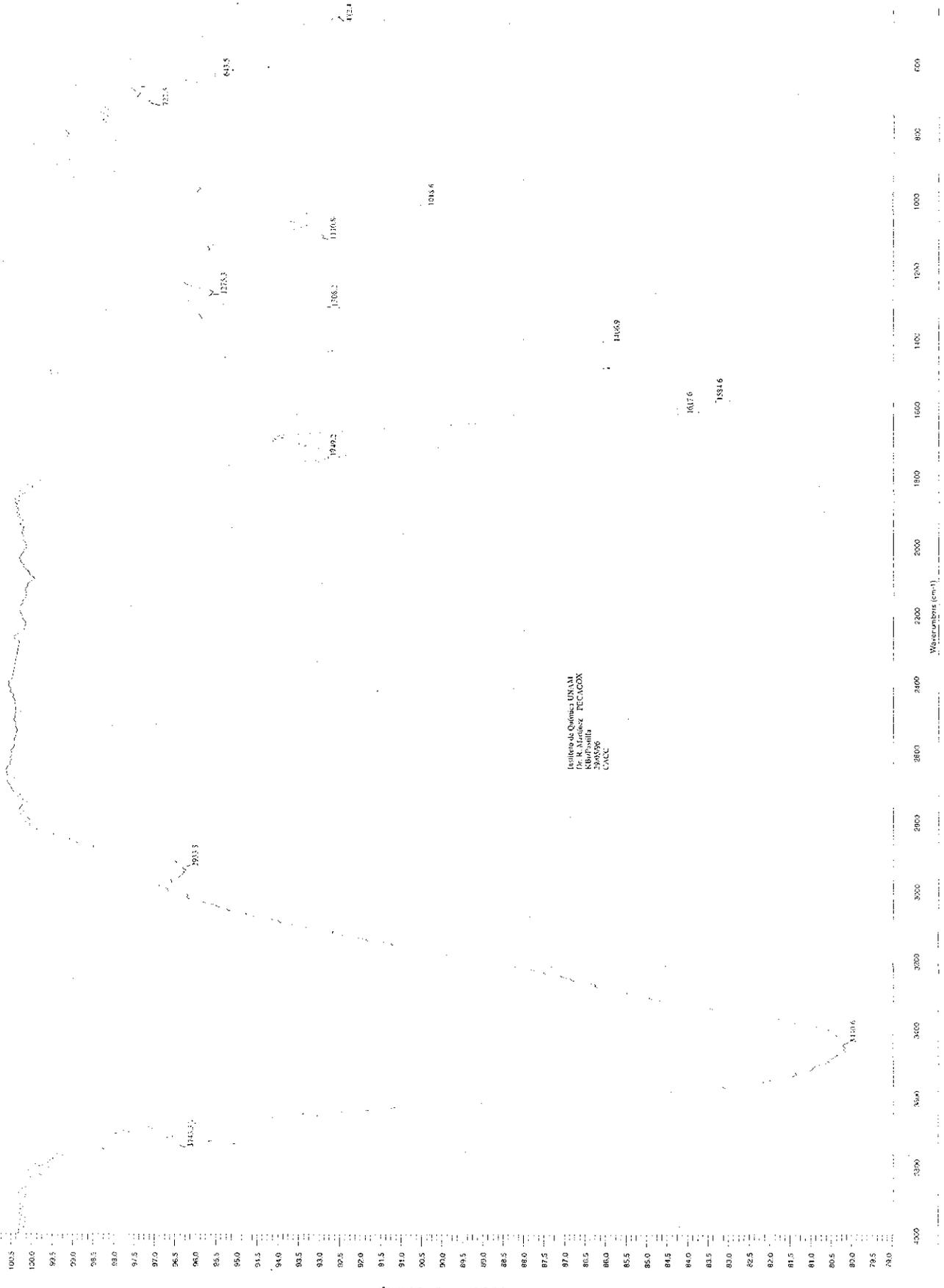
4000
3800
3600
3400
3200
3000
2800
2600
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600

Wave number (cm⁻¹)

Instituto Químico UNAM
Dr. R. López PI-CAO
KB/MS-112
2905596
CACC

T
7
R
P
M
L
L
P
C
O

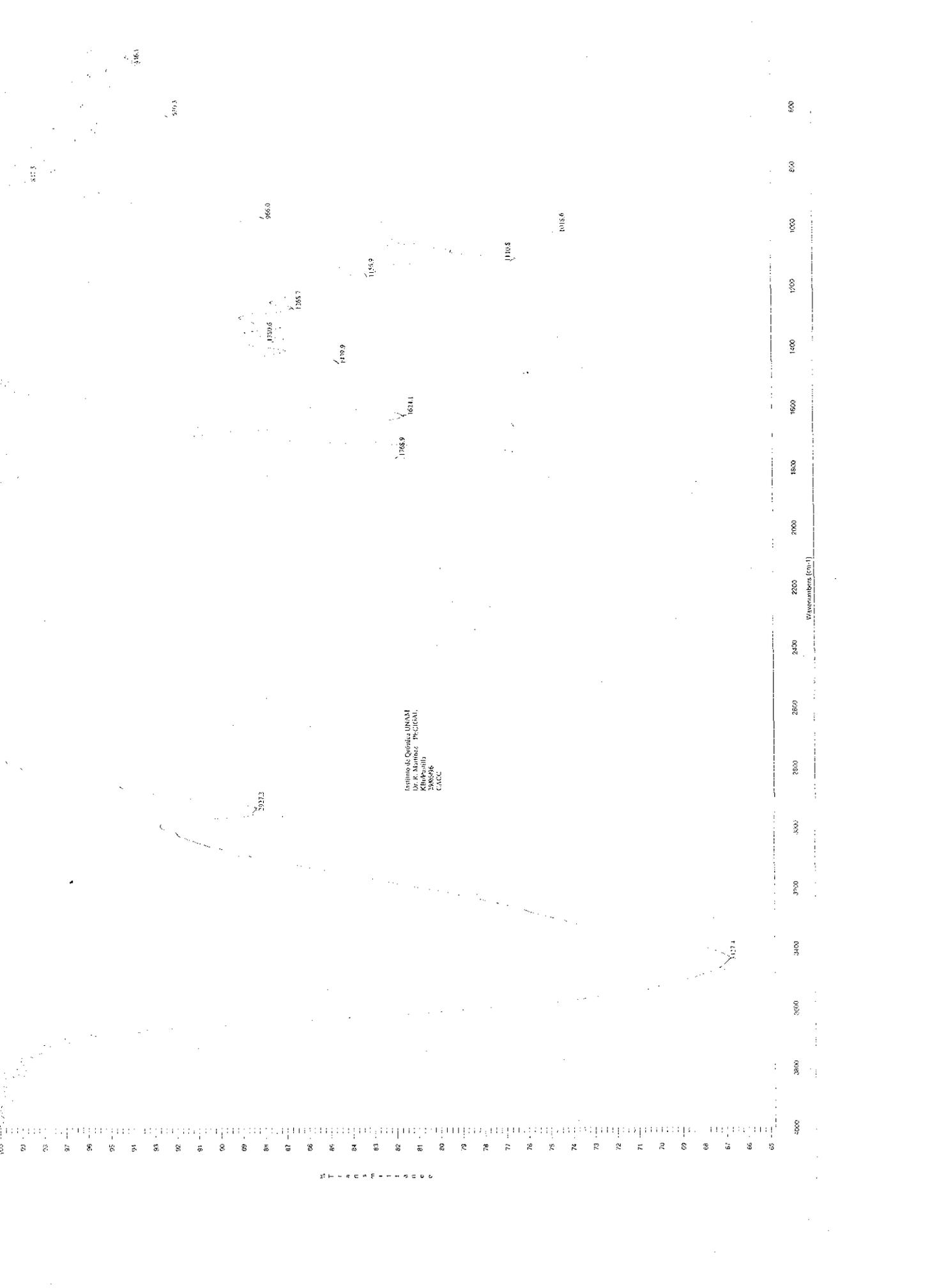




Instituto Químico UNAM
 Dr. R. Martínez, TECACOX
 Kharibonilla
 390596
 C.M.C.

1000 1200 1400 1600 1800 2000 2200 2400 2600 2800 3000 3200 3400 3600 3800 4000
 4000 3800 3600 3400 3200 3000 2800 2600 2400 2200 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600
 Wavenumbers (cm⁻¹)

5
 4
 3
 2
 1
 0
 -1
 -2
 -3
 -4
 -5



1950 1951 1952 1953 1954 1955 1956 1957 1958 1959 1960 1961 1962 1963 1964 1965 1966 1967 1968 1969 1970 1971 1972 1973 1974 1975 1976 1977 1978 1979 1980 1981 1982 1983 1984 1985 1986 1987 1988 1989 1990 1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997 1998 1999

Instituto Químico URNAM
 Av. Simão de Sá, 1100
 Ribeirão Preto, SP
 13059-098
 C.A.C.C.

Members (thousands)

3800 3900 4000 4100 4200 4300 4400 4500 4600 4700 4800 4900 5000 5100 5200 5300 5400 5500 5600 5700 5800 5900 6000 6100 6200 6300

3815

3860

3910

4060

4210

4360

4510

4660

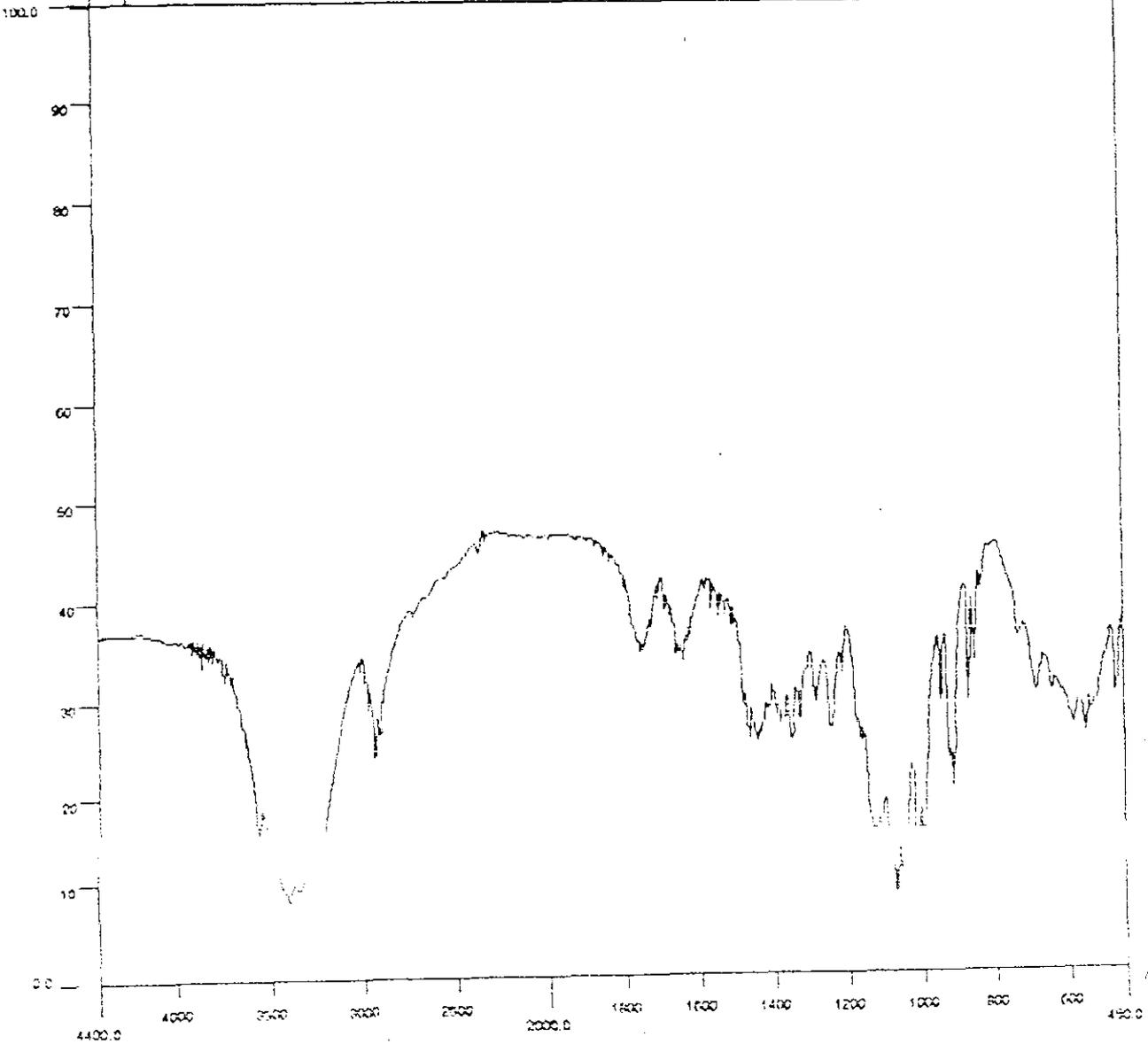
4810

4960

5110

5260

6260

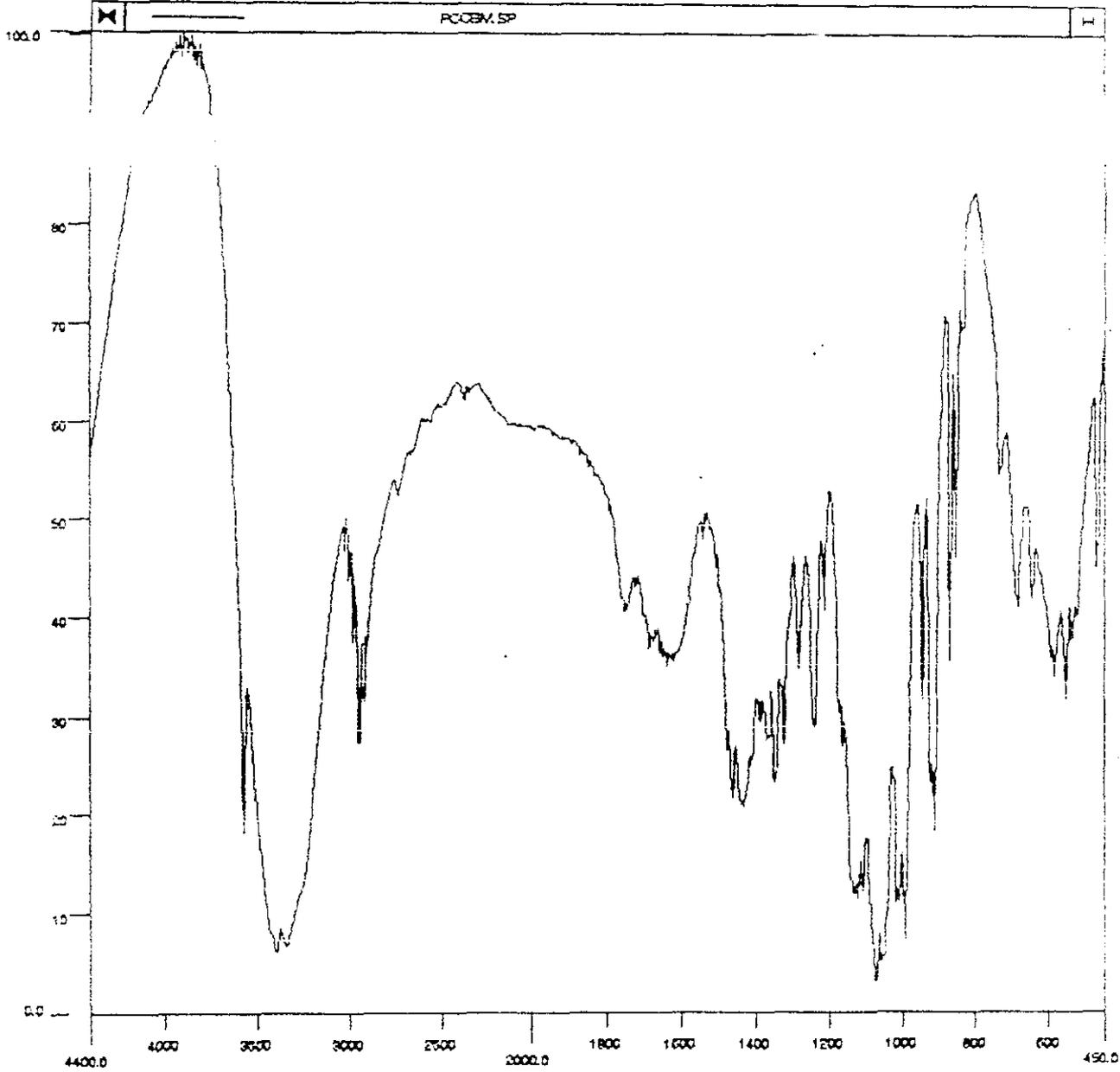


File: PCCAM.SP Date: 04/08/73 Time: 11:48:27.00

Resolution: 4.00 Operator:

| name | #pts | start | end | min | max | res | ord | add | thresh |
|----------|---------|---------|---------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|
| PCCAM.SP | 1976 | 4400.00 | 450.00 | 7.93 | 47.10 | 4.00 | %T | 1 | 2.00 |
| | 4000.00 | 36.36 | 2000.00 | 46.43 | | | | | |
| 34.0 | 33.49 | 3568.0 | 14.29 | 3228.0 | 7.93 | 2970.0 | 29.06 | 2942.0 | 24.29 |
| 36.0 | 44.82 | 1734.0 | 34.92 | 1684.0 | 39.08 | 1626.0 | 33.97 | 1560.0 | 39.15 |
| 38.0 | 38.47 | 1508.0 | 37.57 | 1458.0 | 25.88 | 1438.0 | 25.87 | 1274.0 | 27.44 |
| 39.0 | 25.77 | 1332.0 | 27.91 | 1278.0 | 29.70 | 1239.0 | 27.03 | 1110.0 | 15.79 |
| 40.0 | 8.14 | 1058.0 | 10.40 | 1014.0 | 15.21 | 990.0 | 13.02 | 942.0 | 19.58 |
| 41.0 | 20.76 | 868.0 | 29.64 | 850.0 | 33.98 | 884.0 | 30.81 | 822.0 | 27.11 |
| 42.0 | 25.34 | 736.0 | 26.57 | 722.0 | 32.65 | | | | |

77 PEAK(S) FOUND

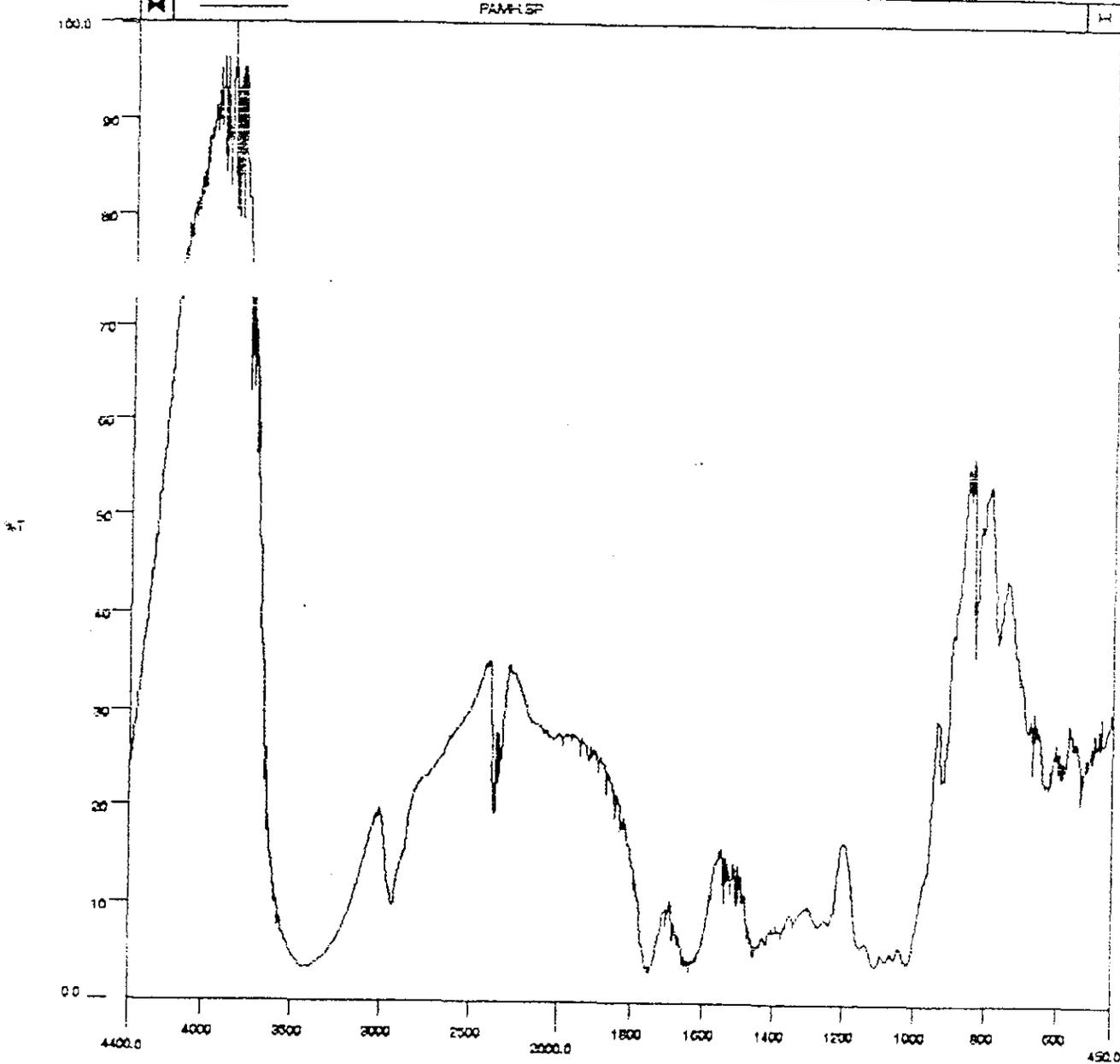


CH-1

P-E 16 Filename: PCCBM.SP Date: 94/09/23 Time: 11:56:04.00

Scans: 1 Resolution: 4.00 Operator:

| Sample: | lename | #pts | start | end | min | max | yes | ord | acc | thresh |
|---------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
| | PCCBM.SP | 1976 | 4400.00 | 490.00 | 3.16 | 100.00 | 4.00 | XT | 1 | 2.00 |
| | FF | 4000.00 | 96.35 | 2000.00 | 59.29 | | | | | |
| | 9000.0 | 97.54 | 3852.0 | 56.64 | 3818.0 | 96.69 | 3560.0 | 18.29 | 3388.0 | 6.14 |
| | 8012.0 | 46.67 | 2984.0 | 43.71 | 2982.0 | 44.27 | 2970.0 | 37.63 | 2942.0 | 27.44 |
| | 6917.0 | 31.04 | 1750.0 | 42.70 | 1638.0 | 35.20 | 1460.0 | 21.83 | 1410.0 | 20.80 |
| | 385.0 | 28.54 | 1356.0 | 27.74 | 1346.0 | 23.38 | 1322.0 | 17.35 | 1280.0 | 34.93 |
| | 138.0 | 29.08 | 1208.0 | 40.70 | 1160.0 | 27.11 | 1116.0 | 11.56 | 1104.0 | 12.39 |
| | 608.0 | 3.16 | 1054.0 | 5.12 | 1014.0 | 11.20 | 990.0 | 7.36 | 948.0 | 31.89 |
| | 910.0 | 18.40 | 858.0 | 35.67 | 850.0 | 46.05 | 824.0 | 69.11 | 732.0 | 54.62 |
| | 101.0 | 41.00 | 648.0 | 41.95 | 584.0 | 34.16 | 552.0 | 31.88 | 508.0 | 32.32 |
| | 502.0 | 37.49 | 472.0 | 45.10 | | | | | | |



P-E 16 Filename: PAMH.SP Date: 94/09/20 Time: 12:12:04.00

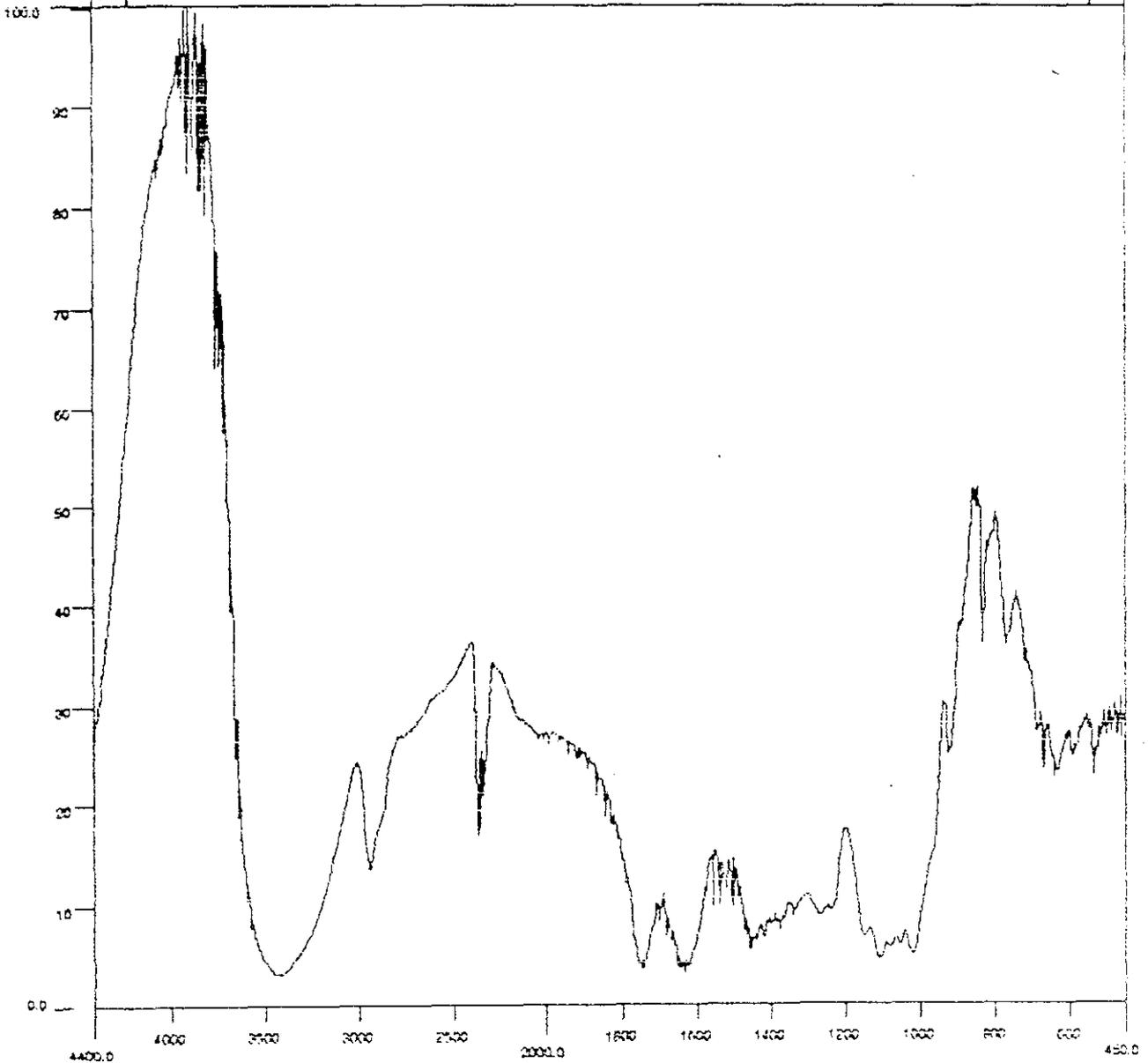
Scene: 1 Resolution: 4.00 Operator:

Sample:

| Filename | #pts | start | end | min | max | res | ord | acc | thresh |
|----------|------|---------|--------|------|--------|------|-----|-----|--------|
| PAMH.SP | 1976 | 4400.00 | 450.00 | 3.16 | 100.00 | 4.00 | XT | 1 | 2.00 |

REF 4000.00 86.54 2000.00 27.51

| | | | | | | | | | |
|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| 3992.0 | 85.25 | 3948.0 | 88.76 | 3942.0 | 89.31 | 3930.0 | 89.39 | 3918.0 | 91.25 |
| 3900.0 | 84.45 | 3892.0 | 90.83 | 3886.0 | 89.24 | 3880.0 | 87.58 | 3870.0 | 82.98 |
| 3862.0 | 88.63 | 3854.0 | 75.64 | 3838.0 | 80.53 | 3826.0 | 90.72 | 3820.0 | 79.72 |
| 3806.0 | 85.35 | 3802.0 | 79.56 | 3784.0 | 85.24 | 3780.0 | 82.09 | 3772.0 | 81.72 |
| 3738.0 | 77.12 | 3730.0 | 62.92 | 3744.0 | 62.72 | 3732.0 | 62.72 | 3720.0 | 61.72 |
| 3710.0 | 55.35 | 3702.0 | 59.66 | 3686.0 | 47.70 | 3674.0 | 38.44 | 3670.0 | 31.72 |
| 2466.0 | 22.74 | 2092.0 | 3.35 | 2026.0 | 9.23 | 2006.0 | 13.42 | 2144.0 | 21.47 |
| 1866.0 | 21.47 | 1844.0 | 19.00 | 1750.0 | 2.16 | 1636.0 | 3.29 | 1558.0 | 12.25 |
| 1540.0 | 10.39 | 1522.0 | 11.41 | 1506.0 | 10.02 | 1456.0 | 4.92 | 1264.0 | 2.04 |
| 1106.0 | 3.65 | 922.0 | 23.22 | 848.0 | 52.33 | 832.0 | 36.19 | 762.0 | 27.62 |



File: I:\msm\15974.LSF Date: 94/09/03 Time: 12:05:41.00

Scanrate: Resolution: 400 Operator:

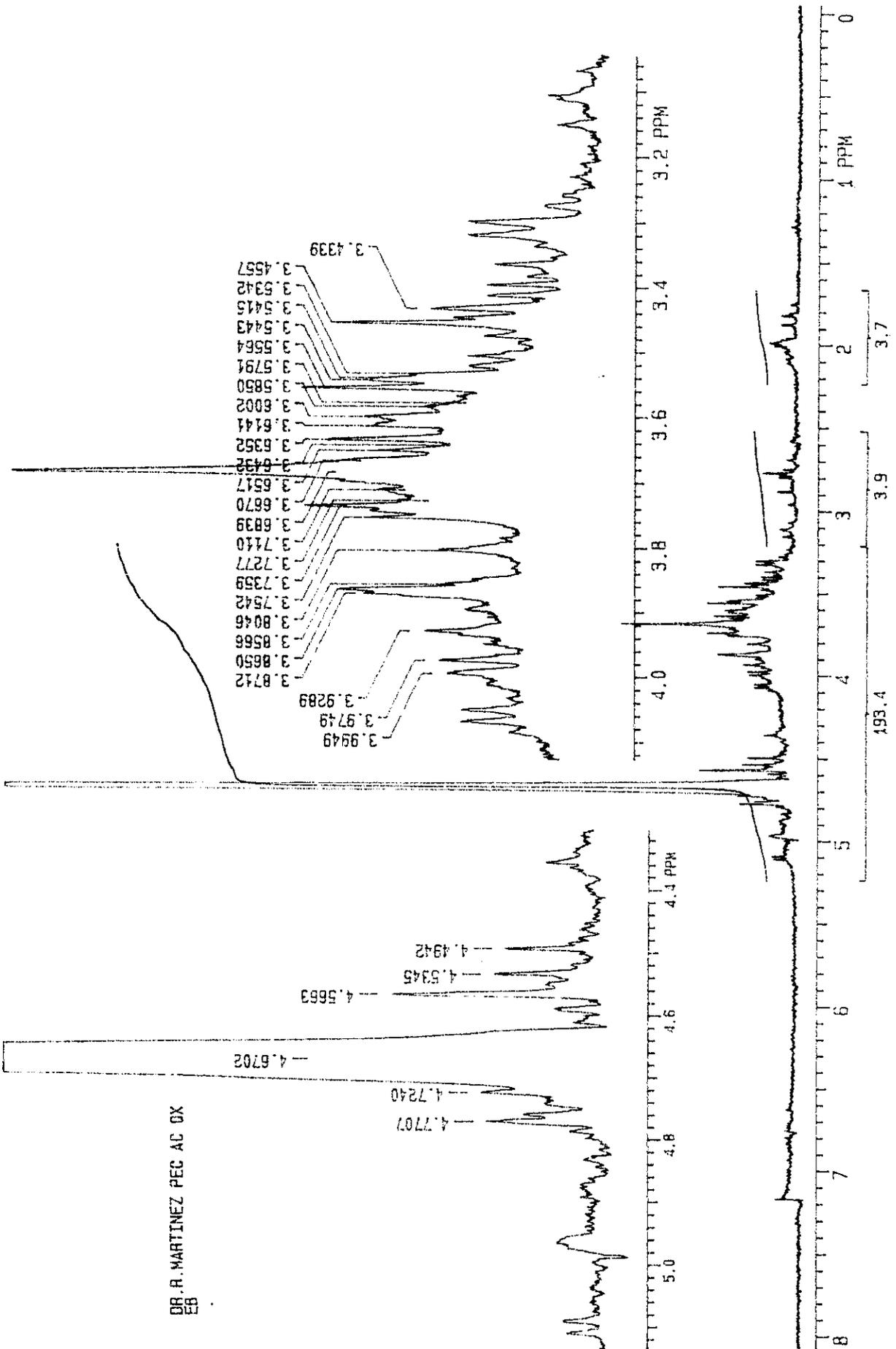
Sample:

| Channel | #pts | start | end | min | max | res | ord | acc | thres | |
|-----------|---------|---------|---------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| 15974.LSF | 1176 | 4400.00 | 450.00 | 3.16 | 100.00 | 4.00 | XT | 1 | 2.00 | |
| 15974.LSF | 4000.00 | 89.84 | 2000.00 | 27.02 | | | | | | |
| 15974.LSF | 3042.0 | 92.12 | 3130.0 | 30.71 | 3134.0 | 30.20 | 3012.0 | 30.13 | 3002.0 | 33.48 |
| 15974.LSF | 3200.0 | 92.37 | 3284.0 | 31.17 | 3288.0 | 30.77 | 3268.0 | 30.69 | 3258.0 | 74.09 |
| 15974.LSF | 3336.0 | 91.83 | 3410.0 | 31.09 | 3400.0 | 30.02 | 3370.0 | 30.01 | 3358.0 | 31.38 |
| 15974.LSF | 3470.0 | 94.16 | 3544.0 | 32.22 | 3534.0 | 30.05 | 3492.0 | 30.16 | 3470.0 | 57.70 |
| 15974.LSF | 3600.0 | 60.82 | 3686.0 | 49.35 | 3674.0 | 39.54 | 3666.0 | 48.01 | 3648.0 | 24.89 |
| 15974.LSF | 3828.0 | 18.96 | 3424.0 | 3.16 | 2934.0 | 13.66 | 2358.0 | 17.03 | 2344.0 | 20.54 |
| 15974.LSF | 3968.0 | 21.14 | 1844.0 | 19.05 | 1750.0 | 3.79 | 1684.0 | 7.09 | 1636.0 | 3.30 |
| 15974.LSF | 4058.0 | 10.02 | 1540.0 | 10.19 | 1522.0 | 11.76 | 1506.0 | 9.93 | 1456.0 | 5.66 |
| 15974.LSF | 4106.0 | 4.85 | 1014.0 | 5.27 | 922.0 | 25.29 | 832.0 | 36.22 | 770.0 | 36.08 |
| 15974.LSF | 4268.0 | 23.71 | 640.0 | 23.00 | 590.0 | 25.03 | 532.0 | 23.08 | 502.0 | 27.11 |

ANEXO 7

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

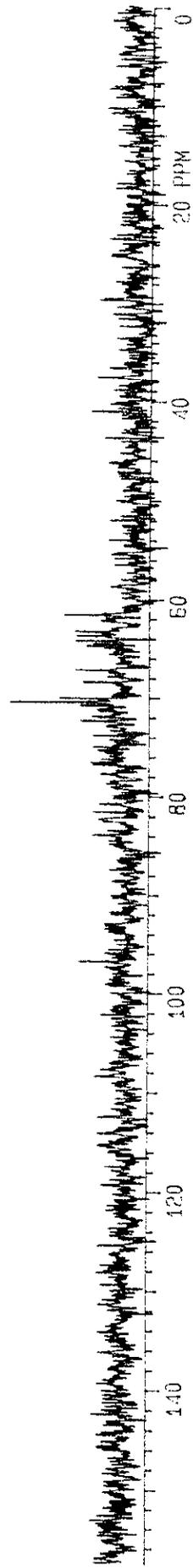
DR. R. MARTINEZ PEC AC OX
EB



DR.R.MARTINEZ PEC AO OX
 SPECTRAL LINES FOR TH- 27.84
 RFL- 1000.5 RFP- 933.5

| INDEX | FREQ | PPM | INTENSITY |
|-------|--------|-------|-----------|
| 01 | 581.44 | 2.959 | 25.970 |
| 02 | 575.57 | 2.879 | 52.160 |
| 03 | 559.45 | 2.795 | 49.791 |
| 04 | 555.95 | 2.780 | 49.531 |
| 05 | 553.33 | 2.767 | 34.117 |
| 06 | 549.12 | 2.746 | 40.133 |
| 07 | 537.74 | 2.629 | 29.920 |
| 08 | 537.27 | 2.597 | 34.340 |
| 09 | 421.99 | 2.110 | 29.482 |
| 10 | 421.02 | 2.105 | 33.595 |
| 11 | 420.43 | 2.102 | 30.395 |
| 12 | 419.97 | 2.100 | 30.295 |
| 13 | 419.36 | 2.092 | 29.939 |
| 14 | 418.09 | 2.081 | 35.715 |
| 15 | 416.87 | 2.054 | 29.070 |
| 16 | 409.93 | 2.050 | 34.822 |
| 17 | 406.12 | 2.045 | 35.978 |
| 18 | 407.82 | 2.040 | 37.660 |
| 19 | 407.41 | 2.037 | 37.359 |
| 20 | 406.54 | 2.033 | 34.398 |
| 21 | 405.91 | 2.030 | 29.475 |
| 22 | 405.27 | 2.027 | 30.709 |
| 23 | 404.44 | 2.022 | 32.459 |
| 24 | 402.43 | 2.012 | 41.899 |
| 25 | 401.84 | 2.009 | 37.760 |
| 26 | 399.69 | 1.999 | 50.795 |
| 27 | 399.36 | 1.990 | 46.527 |
| 28 | 399.71 | 1.984 | 71.910 |
| 29 | 395.34 | 1.975 | 50.054 |
| 30 | 394.10 | 1.971 | 45.452 |
| 31 | 393.09 | 1.968 | 44.273 |
| 32 | 391.54 | 1.966 | 33.036 |
| 33 | 390.99 | 1.965 | 33.711 |
| 34 | 374.41 | 1.972 | 44.762 |
| 35 | 373.96 | 1.970 | 40.401 |
| 36 | 363.36 | 1.917 | 44.919 |
| 37 | 362.65 | 1.914 | 35.753 |
| 38 | 361.10 | 1.906 | 29.310 |

DR. ROBERTO MARTINEZ P.E.C. A.C.O.X
EB



Roberto

PecACOX

DR. ~~MARTINEZ~~ MARTINEZ ~~PEREZ~~

SPECTRAL LINES FOR TH- 33.42

RFL- 3791.2 RFP- 3389.6

| INDEX | FREQ | PPM | INTENSITY |
|-------|--------|--------|-----------|
| 01 | 3544.7 | 70.487 | 93.190 |
| 02 | 3522.0 | 70.034 | 54.752 |
| 03 | 3377.2 | 67.154 | 35.586 |
| *04 | 3360.0 | 66.814 | -35.973 |
| 05 | 3229.2 | 64.212 | 35.859 |
| *06 | 3217.5 | 63.980 | -38.416 |
| 07 | 3201.5 | 63.661 | 34.724 |
| 08 | 3179.9 | 63.233 | 35.378 |
| 09 | 3097.4 | 61.661 | 45.666 |

Method Conditions

Pump Rate: 20 rpm **PMT Voltage:** 650 V
Plasma Gas: 15.0 L/min **Auxiliary Gas:** 1.50 L/min **Sample Uptake:** 15 sec
Fast Pump: On **Rinse Time:** 10 sec **Smart Rinse:** None

Lines

| El | Wavelen. | Type | Int | Rep | Track | Ord | Power | Curve | FTB | MaxErr% | BGD | OBCL | OBCR |
|----|----------|------|------|-----|-------|-----|-------|-------|-----|---------|-----|------|------|
| Al | 396.152 | ANL | 3.00 | 3 | 0.080 | 1 | 1.30 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| As | 188.979 | ANL | 3.00 | 3 | 0.080 | 1 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Be | 234.861 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Cd | 228.802 | ANL | 3.00 | 3 | 0.010 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Cu | 324.754 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Fe | 259.940 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Hg | 194.163 | ANL | 5.00 | 2 | 0.080 | 1 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Mn | 257.610 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Ni | 221.647 | ANL | 3.00 | 3 | 0.010 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Pb | 261.418 | ANL | 3.00 | 3 | 0.020 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| Se | 196.026 | ANL | 5.00 | 2 | 0.040 | 1 | 1.00 | Lin | No | 5 | PPB | | |
| Zn | 213.856 | ANL | 3.00 | 3 | 0.027 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |

Quality Control

| Resolution | Condition | Rate | Action |
|------------|-----------|------|-------------------|
| C Standard | ± 10.0 % | 3 | Flag and continue |

Standard 1 (Std) 10/24/96, 3:21:27 PM Tube 1

| El | Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD (Int) | %RSD | Intensity |
|----|----------|------------|-------|----------|------|-----------|
| Al | 396.152 | 5.0000 | ppm | 132 | 0.3 | 41815 |
| As | 188.979 | 1.0000d | ppm | 1 | 5.3 | 23 |
| Be | 234.861 | 1.0000 | ppm | 58 | 0.1 | 107647 |
| Cd | 228.802 | 0.25000m | ppm | 6 | 0.6 | 1039 |
| Cu | 324.754 | 1.0000 | ppm | 54 | 0.4 | 12556 |
| Fe | 259.940 | 1.0000 | ppm | 7 | 0.4 | 1711 |
| Mn | 257.610 | 1.0000 | ppm | 143 | 0.5 | 26091 |
| Ni | 221.647 | 1.0000 | ppm | 3 | 0.3 | 1069 |
| Pb | 261.418 | 1.0000m | ppm | 4 | 1.6 | 259 |
| Se | 196.026 | 0.25000 | ppm | 1 | 8.5 | 15 |
| Zn | 213.856 | 1.0000 | ppm | 29 | 0.3 | 8700 |

Standard 2 (Std) 10/24/96, 3:26:23 PM Tube 2

| El | Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD (Int) | %RSD | Intensity |
|----|----------|------------|-------|----------|------|-----------|
| Al | 396.152 | 10.000 | ppm | 503 | 0.6 | 83715 |
| As | 188.979 | 2.0000 | ppm | 1 | 3.4 | 42 |
| Be | 234.861 | 2.0000 | ppm | 175 | 0.1 | 213145 |
| Cd | 228.802 | 0.50000m | ppm | 6 | 0.3 | 2063 |

| | | | | | | |
|----|---------|---------|-----|-----|-----|-------|
| Cu | 324.754 | 2.0000 | ppm | 110 | 0.4 | 25928 |
| Fe | 259.940 | 2.0000 | ppm | 7 | 0.2 | 3457 |
| Hg | 194.163 | 0.10000 | ppm | 1 | 1.6 | 83 |
| Mn | 257.610 | 2.0000 | ppm | 225 | 0.4 | 52706 |
| Ni | 221.647 | 2.0000 | ppm | 17 | 0.8 | 2120 |
| Pb | 261.418 | 2.0000m | ppm | 2 | 0.3 | 507 |
| Se | 196.026 | 0.50000 | ppm | 0 | 0.7 | 25 |
| Zn | 213.856 | 2.0000 | ppm | 56 | 0.3 | 16811 |

Standard 3 (Std)

10/24/96, 3:32:02 PM

Tube 3

| El | Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD (Int) | %RSD | Intensity |
|----|----------|------------|-------|----------|------|-----------|
| Al | 396.152 | 20.000 | ppm | 34 | 0.0 | 164411 |
| As | 188.979 | 4.0000 | ppm | 3 | 3.4 | 78 |
| Be | 234.861 | 4.0000 | ppm | 714 | 0.2 | 416819 |
| Cd | 228.802 | 1.0000m | ppm | 5 | 0.1 | 4143 |
| Cu | 324.754 | 4.0000 | ppm | 363 | 0.7 | 53062 |
| Fe | 259.940 | 4.0000 | ppm | 51 | 0.7 | 7096 |
| Hg | 194.163 | 0.20000 | ppm | 0 | 0.1 | 266 |
| Mn | 257.610 | 4.0000 | ppm | 120 | 0.1 | 104934 |
| Ni | 221.647 | 4.0000 | ppm | 27 | 0.6 | 4239 |
| Pb | 261.418 | 4.0000 | ppm | 2 | 0.3 | 962 |
| Se | 196.026 | 1.0000 | ppm | 1 | 1.2 | 49 |
| Zn | 213.856 | 4.0000 | ppm | 455 | 1.3 | 34543 |

Blank (Blk)

10/24/96, 3:38:14 PM

Tube 4

| El | Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD (Int) | %RSD | Intensity |
|----|----------|------------|-------|----------|--------|-----------|
| Al | 396.152 | 0.000000m | ppm | 56 | 44.9 | 124 |
| As | 188.979 | 0.000000d | ppm | 1 | 1749.7 | 0 |
| Be | 234.861 | 0.000000 | ppm | 40 | 4.5 | 907 |
| Cd | 228.802 | 0.000000d | ppm | 4 | 46.4 | 8 |
| Cu | 324.754 | 0.000000m | ppm | 3 | 8.5 | -38 |
| Fe | 259.940 | 0.000000m | ppm | 2 | 3.0 | 74 |
| Hg | 194.163 | 0.000000d | ppm | 0 | 1.6 | 7 |
| Mn | 257.610 | 0.000000 | ppm | 11 | 5.2 | 217 |
| Ni | 221.647 | 0.000000d | ppm | 2 | 25.7 | 6 |
| Pb | 261.418 | 0.000000m | ppm | 2 | 4.7 | 33 |
| Se | 196.026 | 0.000000d | ppm | 0 | 10.5 | 2 |
| Zn | 213.856 | 0.000000 | ppm | 2 | 1.0 | 234 |

Al 396.152 Calibration (ppm)

10/24/96, 3:46:04 PM

Correlation Coefficient: 0.999952

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 41815 | 5.0000 | 5.0114 | 0.011381 | 0.23 |
| Standard 2 | | 83715 | 10.000 | 10.114 | 0.11372 | 1.14 |
| Standard 3 | | 164411 | 20.000 | 19.940 | -0.059706 | -0.30 |
| Blank | m | 124 | 0.000000 | -0.065394 | -0.065394 | NA |

188.979 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:38:21 PM** **Correlation Coefficient: 0.998714**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | d | 23 | 1.0000 | 1.0871 | 0.087084 | 8.71 |
| Standard 2 | | 42 | 2.0000 | 2.0585 | 0.058514 | 2.93 |
| Standard 3 | | 78 | 4.0000 | 3.9490 | -0.051028 | -1.28 |
| Blank | d | 0 | 0.000000 | -0.094570 | -0.094570 | NA |

234.861 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:39:29 PM** **Correlation Coefficient: 0.999929**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 107647 | 1.0000 | 1.0088 | 0.008810 | 0.88 |
| Standard 2 | | 213145 | 2.0000 | 2.0246 | 0.024551 | 1.23 |
| Standard 3 | | 416819 | 4.0000 | 3.9855 | -0.014478 | -0.36 |
| Blank | | 907 | 0.000000 | -0.018883 | -0.018883 | NA |

228.802 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:41:48 PM** **Correlation Coefficient: 0.999995**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | m | 1039 | 0.25000 | 0.25017 | 0.000166 | 0.07 |
| Standard 2 | m | 2063 | 0.50000 | 0.49803 | -0.001974 | -0.39 |
| Standard 3 | m | 4143 | 1.0000 | 1.0009 | 0.000946 | 0.09 |
| Blank | d | 8 | 0.000000 | 0.000863 | 0.000863 | NA |

324.754 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:41:11 PM** **Correlation Coefficient: 0.999874**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 12556 | 1.0000 | 0.97496 | -0.025042 | -2.50 |
| Standard 2 | | 25928 | 2.0000 | 1.9791 | -0.020894 | -1.04 |
| Standard 3 | | 53062 | 4.0000 | 4.0167 | 0.016707 | 0.42 |
| Blank | m | -38 | 0.000000 | 0.029228 | 0.029228 | NA |

259.940 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:40:09 PM** **Correlation Coefficient: 0.999726**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 1711 | 1.0000 | 0.97056 | -0.029436 | -2.94 |
| Standard 2 | | 3457 | 2.0000 | 1.9613 | -0.038688 | -1.93 |
| Standard 3 | | 7096 | 4.0000 | 4.0267 | 0.026703 | 0.67 |
| Blank | m | 74 | 0.000000 | 0.041421 | 0.041421 | NA |

194.163 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:38:43 PM** **Correlation Coefficient: 0.973177**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 2 | | 83 | 0.10000 | 0.072703 | -0.027297 | -27.30 |
| Standard 3 | | 266 | 0.20000 | 0.21365 | 0.013649 | 6.82 |
| Blank | d | 7 | 0.000000 | 0.013649 | 0.013649 | NA |

Calibration failure - excessive percentage error

257.610 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:39:49 PM** **Correlation Coefficient: 0.999992**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 26091 | 1.0000 | 0.99086 | -0.009136 | -0.91 |
| Standard 2 | | 52706 | 2.0000 | 2.0064 | 0.006364 | 0.32 |
| Standard 3 | | 104934 | 4.0000 | 3.9991 | -0.000898 | -0.02 |
| Blank | | 217 | 0.000000 | 0.003670 | 0.003670 | NA |

221.647 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:41:31 PM** **Correlation Coefficient: 0.999999**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 1069 | 1.0000 | 1.0035 | 0.003529 | 0.35 |
| Standard 2 | | 2120 | 2.0000 | 1.9971 | -0.002935 | -0.15 |
| Standard 3 | | 4239 | 4.0000 | 4.0006 | 0.000585 | 0.01 |
| Blank | d | 6 | 0.000000 | -0.001179 | -0.001179 | NA |

261.418 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:40:31 PM** **Correlation Coefficient: 0.999874**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | m | 259 | 1.0000 | 0.97324 | -0.026763 | -2.68 |
| Standard 2 | m | 507 | 2.0000 | 2.0368 | 0.036834 | 1.84 |
| Standard 3 | | 962 | 4.0000 | 3.9883 | -0.011726 | -0.29 |
| Blank | m | 33 | 0.000000 | 0.001655 | 0.001655 | NA |

196.026 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:39:04 PM** **Correlation Coefficient: 0.999373**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 15 | 0.25000 | 0.27141 | 0.021409 | 8.56 |
| Standard 2 | | 25 | 0.50000 | 0.48938 | -0.010622 | -2.12 |
| Standard 3 | | 49 | 1.0000 | 0.99996 | -0.000041 | -0.00 |
| Blank | d | 2 | 0.000000 | -0.010746 | -0.010746 | NA |

No Major at 0%

Calibration failure - excessive percentage error

213.856 Calibration (ppm) **10/24/96, 3:40:53 PM** **Correlation Coefficient: 0.999824**

| Label | Flags | Intensity | Std Conc | Calc Conc | Error | %Error |
|------------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|
| Standard 1 | | 8700 | 1.0000 | 1.0065 | 0.006454 | 0.65 |
| Standard 2 | | 16811 | 2.0000 | 1.9529 | -0.047073 | -2.35 |
| Standard 3 | | 34543 | 4.0000 | 4.0219 | 0.021923 | 0.55 |
| Blank | | 234 | 0.000000 | 0.018696 | 0.018696 | NA |

QC Standard (QCStd) **10/24/96, 3:47:28 PM** **Tube 5**

| El | Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S | %D |
|----|----------|------------|-------|----------|------|-----------|-----|------|
| Al | 396.152 | 10.277 | ppm | 0.007940 | 0.1 | 85060 | - | 2.8 |
| As | 188.979 | 1.8352 | ppm | 0.029779 | 1.6 | 37 | - | -8.2 |
| Be | 234.861 | 1.9998 | ppm | 0.002732 | 0.1 | 210577 | - | -0.0 |
| Cd | 228.802 | 0.50500m | ppm | 0.001502 | 0.3 | 2092 | - | 1.0 |
| Cu | 324.754 | 2.0492 | ppm | 0.003000 | 0.1 | 26861 | - | 2.5 |
| Fe | 259.940 | 1.9957 | ppm | 0.007396 | 0.4 | 3517 | - | -0.2 |
| G | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 79 | - | - |
| In | 257.610 | 2.0509 | ppm | 0.007818 | 0.4 | 53874 | - | 2.5 |
| Li | 221.647 | 2.0370 | ppm | 0.004422 | 0.2 | 2162 | - | 1.9 |

| | | | | | | | | |
|----|---------|--------|-----|----------|-----|-------|---|------|
| Pb | 261.418 | 1.9963 | ppm | 0.009912 | 0.5 | 498 | - | -0.2 |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 25 | - | - |
| Zn | 213.856 | 1.9529 | ppm | 0.004755 | 0.2 | 16811 | - | -2.4 |

Actina (Samp) 10/24/96, 3:53:14 PM Tube 6

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----|---------|-------------|-------|----------|-------|-----------|-----|
| Al | 396.152 | -0.009425u | ppm | 0.002597 | 27.6 | 584 | - |
| As | 188.979 | 0.045358d | ppm | 0.031251 | 68.9 | 3 | - |
| Be | 234.861 | -0.026543u | ppm | 0.000061 | 0.2 | 111 | - |
| Cd | 228.802 | 0.001588m | ppm | 0.000346 | 21.8 | 11 | - |
| Cu | 324.754 | 0.053281 | ppm | 0.000155 | 0.3 | 282 | - |
| Fe | 259.940 | 0.039909m | ppm | 0.004352 | 10.9 | 71 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 7 | - |
| Mn | 257.610 | 0.001214 | ppm | 0.000184 | 15.2 | 153 | - |
| Ni | 221.647 | -0.001087du | ppm | 0.001249 | 114.8 | 6 | - |
| Pb | 261.418 | 0.001359m | ppm | 0.008149 | 599.5 | 33 | - |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 3 | - |
| Zn | 213.856 | 0.042484 | ppm | 0.017825 | 42.0 | 438 | - |

Actina Tejocote (Samp) 10/24/96, 3:59:02 PM Tube 7

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----|---------|--------------|-------|----------|-------|-----------|-----|
| Al | 396.152 | -0.051174pmu | ppm | 0.006300 | 12.3 | 241 | - |
| As | 188.979 | -0.095112du | ppm | 0.037921 | 39.9 | 0 | - |
| Be | 234.861 | -0.026804mu | ppm | 0.000072 | 0.3 | 84 | - |
| Cd | 228.802 | -0.000356du | ppm | 0.000879 | 246.8 | 3 | - |
| Cu | 324.754 | 0.054030m | ppm | 0.001145 | 2.1 | 292 | - |
| Fe | 259.940 | 0.060566d | ppm | 0.007364 | 12.2 | 108 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 3 | - |
| Mn | 257.610 | 0.019242 | ppm | 0.000226 | 1.2 | 625 | - |
| Ni | 221.647 | 0.003309 | ppm | 0.001164 | 35.2 | 11 | - |
| Pb | 261.418 | -0.001909u | ppm | 0.006078 | 318.4 | 32 | - |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 4 | - |
| Zn | 213.856 | 0.68398 | ppm | 0.004328 | 0.6 | 5936 | - |

Actina Tejocote Ox (Samp) 10/24/96, 4:04:26 PM Tube 8

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----|---------|-------------|-------|----------|------|-----------|-----|
| Al | 396.152 | -0.087010mu | ppm | 0.008411 | 9.7 | -53 | - |
| As | 188.979 | 0.12932d | ppm | 0.009676 | 7.5 | 4 | - |
| Be | 234.861 | -0.027408u | ppm | 0.000314 | 1.1 | 21 | - |
| Cd | 228.802 | 0.002184d | ppm | 0.000441 | 20.2 | 13 | - |
| Cu | 324.754 | 0.030894 | ppm | 0.001030 | 3.3 | -16 | - |
| Fe | 259.940 | 0.054549 | ppm | 0.011704 | 21.5 | 97 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 0 | - |
| Mn | 257.610 | -0.002454mu | ppm | 0.000458 | 18.7 | 57 | - |
| Ni | 221.647 | 0.004501d | ppm | 0.002338 | 51.9 | 12 | - |
| Pb | 261.418 | 0.031837m | ppm | 0.011541 | 36.2 | 40 | - |

| | | | | | | | |
|---|---------|-------------|-----|----------|-----|---|---|
| e | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 1 | - |
| n | 213.856 | -0.008158du | ppm | 0.000040 | 0.5 | 4 | - |

Standard (QCStd) 10/24/96, 4:10:06 PM Tube 9

| Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S | %D |
|----------|------------|-------|----------|------|-----------|-----|--------|
| 396.152 | 9.7788 | ppm | 0.039878 | 0.4 | 80965 | - | -2.2 |
| 188.979 | 1.7654 | ppm | 0.020922 | 1.2 | 36 | - | -11.7F |
| 234.861 | 1.8556 | ppm | 0.003392 | 0.2 | 195593 | - | -7.2 |
| 228.802 | 0.47708m | ppm | 0.003305 | 0.7 | 1977 | - | -4.6 |
| 324.754 | 1.8996 | ppm | 0.006080 | 0.3 | 24870 | - | -5.0 |
| 259.940 | 1.8449 | ppm | 0.016220 | 0.9 | 3252 | - | -7.8 |
| 194.163 | uncal | ppm | - | - | 71 | - | - |
| 257.610 | 1.9005 | ppm | 0.004082 | 0.2 | 49933 | - | -5.0 |
| 221.647 | 1.9580 | ppm | 0.004949 | 0.3 | 2079 | - | -2.1 |
| 261.418 | 1.8192 | ppm | 0.027948 | 1.5 | 456 | - | -9.0 |
| 196.026 | uncal | ppm | - | - | 21 | - | - |
| 213.856 | 1.8136 | ppm | 0.004556 | 0.3 | 15617 | - | -9.3 |

Pectina Citrica 84% (Samp) 10/24/96, 4:16:13 PM Tube 10

| Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----------|-------------|-------|----------|-------|-----------|-----|
| 396.152 | 0.020218m | ppm | 0.001015 | 5.0 | 827 | - |
| 188.979 | 0.012110d | ppm | 0.038391 | 317.0 | 2 | - |
| 234.861 | -0.025124u | ppm | 0.000148 | 0.6 | 258 | - |
| 228.802 | 0.002404 | ppm | 0.000803 | 33.4 | 14 | - |
| 324.754 | 0.079058 | ppm | 0.001175 | 1.5 | 625 | - |
| 259.940 | 0.11324m | ppm | 0.003319 | 2.9 | 201 | - |
| 194.163 | uncal | ppm | - | - | 5 | - |
| 257.610 | 0.010853 | ppm | 0.000166 | 1.5 | 406 | - |
| 221.647 | -0.004191du | ppm | 0.000252 | 6.0 | 3 | - |
| 261.418 | 0.007121m | ppm | 0.024556 | 344.9 | 34 | - |
| 196.026 | uncal | ppm | - | - | 4 | - |
| 213.856 | 0.019207 | ppm | 0.000268 | 1.4 | 239 | - |

040 Pectina Tejoc (Samp) 10/24/96, 4:22:55 PM Tube 11

| Wavelen. | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----------|-------------|-------|----------|------|-----------|-----|
| 396.152 | -0.082425mu | ppm | 0.010736 | 13.0 | -16 | - |
| 188.979 | -0.040145du | ppm | 0.004818 | 12.0 | 1 | - |
| 234.861 | -0.026939u | ppm | 0.000015 | 0.1 | 70 | - |
| 228.802 | 0.003437m | ppm | 0.000899 | 26.2 | 19 | - |
| 324.754 | 0.035917m | ppm | 0.001946 | 5.4 | 51 | - |
| 259.940 | 0.19535 | ppm | 0.042862 | 21.9 | 345 | - |
| 194.163 | uncal | ppm | - | - | 1 | - |
| 257.610 | 0.020298 | ppm | 0.000092 | 0.5 | 653 | - |
| 221.647 | -0.001176du | ppm | 0.000662 | 56.3 | 6 | - |
| 261.418 | -0.061713mu | ppm | 0.013658 | 22.1 | 18 | - |
| 196.026 | uncal | ppm | - | - | 2 | - |

Zn 213.856 -0.008740du ppm 0.000500 5.7 -1 -

TD II (Samp) 10/24/96, 4:28:19 PM Tube 12

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----|---------|------------|-------|----------|------|-----------|-----|
| Al | 396.152 | 9.3212 | ppm | 0.025274 | 0.3 | 77207 | - |
| As | 188.979 | 2.0549 | ppm | 0.061843 | 3.0 | 42 | - |
| Be | 234.861 | 1.8323 | ppm | 0.002635 | 0.1 | 193178 | - |
| Cd | 228.802 | 0.46685m | ppm | 0.002264 | 0.5 | 1935 | - |
| Cu | 324.754 | 1.8087 | ppm | 0.001800 | 0.1 | 23659 | - |
| Fe | 259.940 | 1.8595 | ppm | 0.002496 | 0.1 | 3277 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 68 | - |
| Mn | 257.610 | 1.8807 | ppm | 0.001758 | 0.1 | 49413 | - |
| Ni | 221.647 | 1.9150 | ppm | 0.015254 | 0.8 | 2033 | - |
| Pb | 261.418 | 1.8472m | ppm | 0.004480 | 0.2 | 463 | - |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 22 | - |
| Zn | 213.856 | 1.8156 | ppm | 0.006821 | 0.4 | 15634 | - |

QC Standard (QCStd) 10/24/96, 4:33:34 PM Tube 13

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S | %D |
|----|---------|------------|-------|----------|------|-----------|-----|--------|
| Al | 396.152 | 9.2634 | ppm | 0.16519 | 1.8 | 76732 | - | -7.4 |
| As | 188.979 | 1.8364d | ppm | 0.056131 | 3.1 | 37 | - | -8.2 |
| Be | 234.861 | 1.9328 | ppm | 0.005742 | 0.3 | 203614 | - | -3.4 |
| Cd | 228.802 | 0.47812m | ppm | 0.004504 | 0.9 | 1981 | - | -4.4 |
| Cu | 324.754 | 1.8103 | ppm | 0.023843 | 1.3 | 23679 | - | -9.5 |
| Fe | 259.940 | 1.9328 | ppm | 0.024192 | 1.3 | 3407 | - | -3.4 |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 69 | - | - |
| Mn | 257.610 | 1.9387 | ppm | 0.006369 | 0.3 | 50932 | - | -3.1 |
| Ni | 221.647 | 1.8766 | ppm | 0.019394 | 1.0 | 1992 | - | -6.2 |
| Pb | 261.418 | 1.8108m | ppm | 0.025368 | 1.4 | 454 | - | -9.5 |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 25 | - | - |
| Zn | 213.856 | 1.7996 | ppm | 0.005762 | 0.3 | 15497 | - | -10.0F |

TD desconocido (Samp) 10/24/96, 4:39:09 PM Tube 14

| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
|----|---------|-------------|-------|----------|------|-----------|-----|
| Al | 396.152 | 0.007238m | ppm | 0.000217 | 3.0 | 721 | - |
| As | 188.979 | -0.024919du | ppm | 0.013075 | 52.5 | 1 | - |
| Be | 234.861 | -0.024169u | ppm | 0.000086 | 0.4 | 358 | - |
| Cd | 228.802 | 0.001631m | ppm | 0.000369 | 22.6 | 11 | - |
| Cu | 324.754 | 0.080220 | ppm | 0.001310 | 1.6 | 641 | - |
| Fe | 259.940 | 0.14347 | ppm | 0.002440 | 1.7 | 254 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 6 | - |
| Mn | 257.610 | 0.012301 | ppm | 0.000141 | 1.1 | 443 | - |
| Ni | 221.647 | -0.002070du | ppm | 0.000796 | 38.5 | 5 | - |
| Pb | 261.418 | -0.059451du | ppm | 0.014396 | 24.2 | 19 | - |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 2 | - |
| Zn | 213.856 | 0.021721 | ppm | 0.000237 | 1.1 | 260 | - |

| Sample 10 (Samp) | | | 10/24/96, 4:45:45 PM | | Tube 15 | | |
|------------------|---------|-------------|----------------------|----------|---------|-----------|-----|
| El | Wavelen | Sol'n Conc | Units | SD | %RSD | Intensity | I/S |
| Al | 396.152 | -0.047695mu | ppm | 0.003615 | 7.6 | 269 | - |
| As | 188.979 | 0.079074d | ppm | 0.021274 | 26.9 | 3 | - |
| Be | 234.861 | -0.026782mu | ppm | 0.000029 | 0.1 | 86 | - |
| Cd | 228.802 | 0.000609d | ppm | 0.000544 | 89.3 | 7 | - |
| Cu | 324.754 | 0.12189 | ppm | 0.000591 | 0.5 | 1196 | - |
| Fe | 259.940 | 0.18674 | ppm | 0.003089 | 1.7 | 330 | - |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | - | - | 4 | - |
| Mn | 257.610 | 0.020787 | ppm | 0.000226 | 1.1 | 666 | - |
| Ni | 221.647 | -0.000609du | ppm | 0.002725 | 447.2 | 7 | - |
| Pb | 261.418 | -0.011658u | ppm | 0.008542 | 73.3 | 30 | - |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | - | - | 2 | - |
| Zn | 213.856 | 0.69409 | ppm | 0.003520 | 0.5 | 6023 | - |

Method Conditions

Pump Rate: 20 rpm PMT Voltage: 650 V
 Plasma Gas: 15.0 L/min Auxiliary Gas: 1.50 L/min Sample Uptake: 15 sec
 Nebulizer Pump: On Rinse Time: 10 sec Smart Rinse: None

Wavelengths

| Wavelength | Type | Int | Rep | Track | Ord | Power | Curve | FTB | MaxErr% | BGD | OBCL | OBCR |
|------------|------|------|-----|-------|-----|-------|-------|-----|---------|-----|------|------|
| 396.152 | ANL | 3.00 | 3 | 0.080 | 1 | 1.30 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 188.979 | ANL | 3.00 | 3 | 0.080 | 1 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 234.861 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 228.802 | ANL | 3.00 | 3 | 0.010 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 324.754 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 259.940 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 194.163 | ANL | 5.00 | 2 | 0.080 | 1 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 257.610 | ANL | 3.00 | 3 | 0.040 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 221.647 | ANL | 3.00 | 3 | 0.010 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 261.418 | ANL | 3.00 | 3 | 0.020 | 2 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |
| 196.026 | ANL | 5.00 | 2 | 0.040 | 1 | 1.00 | Lin | No | 5 | PPB | | |
| 213.856 | ANL | 3.00 | 3 | 0.027 | 3 | 1.00 | Lin | No | 15 | PPB | | |

Quality Control

| Standard | Condition | Rate | Action |
|----------|-----------|------|-------------------|
| Standard | ± 10.0 % | 3 | Flag and continue |

| Sample | El | Wavelen. | Conc | Units | Date | Time |
|--------------------|----|----------|--------------|-------|----------|------------|
| sterificada | Al | 396.152 | -0.009425u | ppm | 10/24/96 | 3:53:14 PM |
| | As | 188.979 | 0.045358d | ppm | | |
| | Be | 234.861 | -0.026543u | ppm | | |
| | Cd | 228.802 | 0.001588m | ppm | | |
| | Cu | 324.754 | 0.053281 | ppm | | |
| | Fe | 259.940 | 0.039909m | ppm | | |
| | Hg | 194.163 | uncal | ppm | | |
| | Mn | 257.610 | 0.001214 | ppm | | |
| | Ni | 221.647 | -0.001087du | ppm | | |
| | Pb | 261.418 | 0.001359m | ppm | | |
| | Se | 196.026 | uncal | ppm | | |
| | Zn | 213.856 | 0.042484 | ppm | | |
| ectina Tejocote | Al | 396.152 | -0.051174pmu | ppm | 10/24/96 | 3:59:02 PM |
| | As | 188.979 | -0.095112du | ppm | | |
| | Be | 234.861 | -0.026804mu | ppm | | |
| | Cd | 228.802 | -0.000356du | ppm | | |
| | Cu | 324.754 | 0.054030m | ppm | | |
| | Fe | 259.940 | 0.060566d | ppm | | |
| | Hg | 194.163 | uncal | ppm | | |
| | Mn | 257.610 | 0.019242 | ppm | | |
| | Ni | 221.647 | 0.003309 | ppm | | |
| | Pb | 261.418 | -0.001909u | ppm | | |
| | Se | 196.026 | uncal | ppm | | |
| | Zn | 213.856 | 0.68398 | ppm | | |
| ectina Tejocote Ox | Al | 396.152 | -0.087010mu | ppm | 10/24/96 | 4:04:26 PM |
| | As | 188.979 | 0.12932d | ppm | | |
| | Be | 234.861 | -0.027408u | ppm | | |
| | Cd | 228.802 | 0.002184d | ppm | | |
| | Cu | 324.754 | 0.030894 | ppm | | |
| | Fe | 259.940 | 0.054549 | ppm | | |
| | Hg | 194.163 | uncal | ppm | | |
| | Mn | 257.610 | -0.002454mu | ppm | | |
| | Ni | 221.647 | 0.004501d | ppm | | |
| | Pb | 261.418 | 0.031837m | ppm | | |
| | Se | 196.026 | uncal | ppm | | |
| | Zn | 213.856 | -0.008158du | ppm | | |
| ectina Citrica 84% | Al | 396.152 | 0.020218m | ppm | 10/24/96 | 4:16:13 PM |
| | As | 188.979 | 0.012110d | ppm | | |
| | Be | 234.861 | -0.025124u | ppm | | |
| | Cd | 228.802 | 0.002404 | ppm | | |
| | Cu | 324.754 | 0.079058 | ppm | | |

| Sample | El | Wavelen. | Conc | Units | Date | Time |
|--------|----|----------|-------------|-------|------|------|
| | Fe | 259.940 | 0.11324m | ppm | | |
| | Hg | 194.163 | uncal | ppm | | |
| | Mn | 257.610 | 0.010853 | ppm | | |
| | Ni | 221.647 | -0.004191du | ppm | | |
| | Pb | 261.418 | 0.007121m | ppm | | |
| | Se | 196.026 | uncal | ppm | | |
| | Zn | 213.856 | 0.019207 | ppm | | |

1040 Pectina Tejoc

| | | | | | |
|----|---------|-------------|-----|----------|------------|
| Al | 396.152 | -0.082425mu | ppm | 10/24/96 | 4:22:55 PM |
| As | 188.979 | -0.040145du | ppm | | |
| Be | 234.861 | -0.026939u | ppm | | |
| Cd | 228.802 | 0.003437m | ppm | | |
| Cu | 324.754 | 0.035917m | ppm | | |
| Fe | 259.940 | 0.19535 | ppm | | |
| Hg | 194.163 | uncal | ppm | | |
| Mn | 257.610 | 0.020298 | ppm | | |
| Ni | 221.647 | -0.001176du | ppm | | |
| Pb | 261.418 | -0.061713mu | ppm | | |
| Se | 196.026 | uncal | ppm | | |
| Zn | 213.856 | -0.008740du | ppm | | |

TD II

| | | | | | |
|----|---------|----------|-----|----------|------------|
| Al | 396.152 | 9.3212 | ppm | 10/24/96 | 4:28:19 PM |
| As | 188.979 | 2.0549 | ppm | | |
| Be | 234.861 | 1.8323 | ppm | | |
| Cd | 228.802 | 0.46685m | ppm | | |

| Sample | | estandar 2 | | |
|--------|---------|------------|-------|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | |
| Sc | 424.683 | 203300 | | |
| Sc | 424.683 | 202600 | | |
| Sc | 424.683 | 204200 | | |
| mean | | 203400 | | |
| sd | | 820.3 | | |
| rsd% | | 0.4034 | | |
| Ca | 422.673 | 918400 | 94.96 | ppm |
| Ca | 422.673 | 946000 | 97.30 | ppm |
| Ca | 422.673 | 922500 | 95.31 | ppm |
| mean | | | 95.86 | ppm |
| sd | | | 1.261 | ppm |
| rsd% | | | 1.316 | |
| corr | | | 101.0 | ppm |
| K | 766.490 | 31620 | 94.35 | ppm |
| K | 766.490 | 30470 | 90.71 | ppm |
| K | 766.490 | 30940 | 92.19 | ppm |
| mean | | | 92.42 | ppm |
| sd | | | 1.831 | ppm |
| rsd% | | | 1.982 | |
| corr | | | 97.39 | ppm |

| Sample | | pectina citrica ac | | |
|--------|---------|--------------------|---------|-------|
| El | nm | Intensity | Conc | |
| Sc | 424.683 | 215100 | | |
| Sc | 424.683 | 212100 | | |
| Sc | 424.683 | 218000 | | |
| mean | | 215100 | | |
| sd | | 2978 | | |
| rsd% | | 1.385 | | |
| Ca | 422.673 | 27620 | 3.587 | ppm |
| Ca | 422.673 | 28180 | 3.660 | ppm |
| Ca | 422.673 | 28200 | 3.661 | ppm |
| mean | | | 3.636 | ppm |
| sd | | | 0.04258 | ppm |
| rsd% | | | 1.171 | |
| corr | | | 3.623 | ppm |
| K | 766.490 | 362.3 | 0.4187 | m ppm |
| K | 766.490 | 399.6 | 0.5248 | m ppm |
| K | 766.490 | 301.4 | 0.2454 | m ppm |
| mean | | | 0.3963 | m ppm |
| sd | | | 0.1411 | ppm |
| rsd% | | | 35.59 | |
| corr | | | 0.3949 | ppm |

| Sample | | Pectina Tejacote Ac | | |
|--------|---------|---------------------|--------|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | |
| Sc | 424.683 | 179200 | | |
| Sc | 424.683 | 180400 | | |
| Sc | 424.683 | 180700 | | |
| mean | | 180100 | | |
| sd | | 798.6 | | |
| rsd% | | 0.4435 | | |
| Ca | 422.673 | 27270 | 3.541 | ppm |
| Ca | 422.673 | 29400 | 3.817 | ppm |
| Ca | 422.673 | 31510 | 4.091 | ppm |
| mean | | | 3.816 | ppm |
| sd | | | 0.2749 | ppm |

| | | | | |
|------|---------|------|--------|-------|
| red% | | | 7.205 | |
| corr | | | 4.542 | ppm |
| K | 766.490 | 1707 | 4.253 | m ppm |
| K | 766.490 | 1733 | 4.327 | m ppm |
| K | 766.490 | 1564 | 3.845 | m ppm |
| mean | | | 4.141 | m ppm |
| sd | | | 0.2597 | ppm |
| red% | | | 6.270 | |
| corr | | | 4.929 | ppm |

| | | | | |
|--------|---------|---------------------|---------|-------|
| Sample | | Pectina Tejacote ox | | |
| El | nm | Intensity | Conc | |
| Sc | 424.683 | 229600 | | |
| Sc | 424.683 | 230000 | | |
| Sc | 424.683 | 230500 | | |
| mean | | 230000 | | |
| sd | | 450.9 | | |
| red% | | 0.1960 | | |
| Ca | 422.673 | 7804 | 0.9969 | m ppm |
| Ca | 422.673 | 7639 | 0.9750 | m ppm |
| Ca | 422.673 | 7758 | 0.9907 | m ppm |
| mean | | | 0.9875 | m ppm |
| sd | | | 0.01125 | ppm |
| red% | | | 1.139 | |
| corr | | | 0.9200 | ppm |
| K | 766.490 | 1234 | 2.901 | ppm |
| K | 766.490 | 1230 | 2.891 | ppm |
| K | 766.490 | 1171 | 2.721 | ppm |
| mean | | | 2.838 | ppm |
| sd | | | 0.1012 | ppm |
| red% | | | 3.567 | |
| corr | | | 2.644 | ppm |

| Sample | | Pectina Citrica 2 | | | |
|--------|---------|-------------------|----------|---|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | | |
| Sc | 357.253 | 163700 | | | |
| Sc | 357.253 | 163000 | | | |
| Sc | 357.253 | 165800 | | | |
| mean | | 164200 | | | |
| sd | | 1476 | | | |
| rsd% | | 0.8988 | | | |
| Zn | 202.551 | 50.09 | 0.009688 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 47.03 | 0.009103 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 59.77 | 0.01154 | m | ppm |
| mean | | | 0.01011 | m | ppm |
| sd | | | 0.001271 | | ppm |
| rsd% | | | 12.57 | | |
| corr | | | 0.01005 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 506.1 | 0.04974 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 541.5 | 0.05333 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 554.5 | 0.05465 | | ppm |
| mean | | | 0.05257 | | ppm |
| sd | | | 0.002545 | | ppm |
| rsd% | | | 4.841 | | |
| corr | | | 0.05224 | | ppm |
| Pb | 283.306 | 21.03 | -0.3509 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 24.99 | -0.1113 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 20.14 | -0.4048 | d | ppm |
| mean | | | -0.2890 | d | ppm |
| sd | | | 0.1562 | | ppm |
| rsd% | | | 54.06 | | |
| corr | | | -0.2872 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 248.5 | 0.02664 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 236.7 | 0.02335 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 247.4 | 0.02635 | | ppm |
| mean | | | 0.02545 | | ppm |
| sd | | | 0.001820 | | ppm |
| rsd% | | | 7.154 | | |
| corr | | | 0.02529 | | ppm |

| Sample | | Pectia Tejocote Ac | | | |
|--------|---------|--------------------|----------|---|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | | |
| Sc | 357.253 | 160600 | | | |
| Sc | 357.253 | 161000 | | | |
| Sc | 357.253 | 161900 | | | |
| mean | | 161200 | | | |
| sd | | 651.1 | | | |
| rsd% | | 0.4040 | | | |
| Zn | 202.551 | 2338 | 0.4529 | | ppm |
| Zn | 202.551 | 2325 | 0.4503 | | ppm |
| Zn | 202.551 | 2334 | 0.4520 | | ppm |
| mean | | | 0.4518 | | ppm |
| sd | | | 0.001347 | | ppm |
| rsd% | | | 0.2982 | | |
| corr | | | 0.4573 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 530.2 | 0.05219 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 499.0 | 0.04902 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 509.9 | 0.05013 | m | ppm |
| mean | | | 0.05044 | m | ppm |
| sd | | | 0.001611 | | ppm |
| rsd% | | | 3.193 | | |
| corr | | | 0.05106 | | ppm |
| Pb | 283.306 | -10.07 | -2.234 | d | ppm |

| | | | | | |
|------|---------|--------|----------|---|-----|
| PC | 283.306 | 0.6786 | -1.583 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | -13.13 | -2.419 | d | ppm |
| mean | | | -2.079 | d | ppm |
| sd | | | 0.4391 | | ppm |
| rsd% | | | 21.12 | | |
| corr | | | -2.104 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 251.5 | 0.02749 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 233.7 | 0.02253 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 241.6 | 0.02471 | | ppm |
| mean | | | 0.02491 | | ppm |
| sd | | | 0.002486 | | ppm |
| rsd% | | | 9.979 | | |
| corr | | | 0.02521 | | ppm |

| Sample | Pectia Tejocote Ac2 | | | | |
|--------|---------------------|-----------|----------|---|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | | |
| Sc | 357.253 | 157000 | | | |
| Sc | 357.253 | 158400 | | | |
| Sc | 357.253 | 155300 | | | |
| mean | | 155900 | | | |
| sd | | 965.8 | | | |
| rsd% | | 0.6194 | | | |
| Zn | 202.551 | 2348 | 0.4548 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 2305 | 0.4463 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 2373 | 0.4598 | m | ppm |
| mean | | | 0.4536 | m | ppm |
| sd | | | 0.006826 | | ppm |
| rsd% | | | 1.505 | | |
| corr | | | 0.4745 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 507.5 | 0.04988 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 487.1 | 0.04780 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 496.2 | 0.04873 | m | ppm |
| mean | | | 0.04880 | m | ppm |
| sd | | | 0.001039 | | ppm |
| rsd% | | | 2.128 | | |
| corr | | | 0.05105 | | ppm |
| Pb | 283.306 | 6.750 | -1.216 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 26.45 | -0.02271 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 17.65 | -0.5557 | d | ppm |
| mean | | | -0.5980 | d | ppm |
| sd | | | 0.5976 | | ppm |
| rsd% | | | 99.93 | | |
| corr | | | -0.6256 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 246.9 | 0.02620 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 258.8 | 0.02951 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 244.0 | 0.02540 | m | ppm |
| mean | | | 0.02704 | m | ppm |
| sd | | | 0.002181 | | ppm |
| rsd% | | | 8.066 | | |
| corr | | | 0.02829 | | ppm |

| Sample | estandar 2 | | | | |
|--------|------------|-----------|----------|---|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | | |
| Sc | 357.253 | 159500 | | | |
| Sc | 357.253 | 161200 | | | |
| Sc | 357.253 | 163400 | | | |
| mean | | 161400 | | | |
| sd | | 1969 | | | |
| rsd% | | 1.220 | | | |
| Zn | 202.551 | 4892 | 0.9618 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 4986 | 0.9809 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 4925 | 0.9684 | m | ppm |
| mean | | | 0.9704 | m | ppm |
| sd | | | 0.009675 | | ppm |
| rsd% | | | 0.9970 | | |
| corr | | | 0.9809 | | ppm |

| | | | | | |
|------|---------|-------|---------|---|-----|
| Fe | 259.940 | 20010 | 2.005 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 19520 | 1.956 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 19480 | 1.953 | | ppm |
| mean | | | 1.971 | | ppm |
| sd | | | 0.02922 | | ppm |
| rsd% | | | 1.482 | | |
| corr | | | 1.993 | | ppm |
| Pb | 283.306 | 73.62 | 2.058 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 62.73 | 1.685 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 71.51 | 1.989 | d | ppm |
| mean | | | 1.910 | d | ppm |
| sd | | | 0.1984 | | ppm |
| rsd% | | | 10.39 | | |
| corr | | | 1.931 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 6785 | 1.868 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 6870 | 1.892 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 6782 | 1.867 | m | ppm |
| mean | | | 1.875 | m | ppm |
| sd | | | 0.01418 | | ppm |
| rsd% | | | 0.7560 | | |
| corr | | | 1.896 | | ppm |

| Sample | | Pectina Tejacote DX | | | |
|--------|---------|---------------------|----------|---|-----|
| El | nm | Intensity | Conc | | |
| Sc | 357.253 | 159100 | | | |
| Sc | 357.253 | 159700 | | | |
| Sc | 357.253 | 160800 | | | |
| mean | | 159900 | | | |
| sd | | 882.0 | | | |
| rsd% | | 0.5517 | | | |
| Zn | 202.551 | 1879 | 0.3629 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 1858 | 0.3589 | m | ppm |
| Zn | 202.551 | 1842 | 0.3558 | m | ppm |
| mean | | | 0.3592 | m | ppm |
| sd | | | 0.003571 | | ppm |
| rsd% | | | 0.9941 | | |
| corr | | | 0.3665 | | ppm |
| Fe | 259.940 | 299.6 | 0.02875 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 277.1 | 0.02646 | m | ppm |
| Fe | 259.940 | 365.7 | 0.03547 | m | ppm |
| mean | | | 0.03023 | m | ppm |
| sd | | | 0.004682 | | ppm |
| rsd% | | | 15.49 | | |
| corr | | | 0.03084 | | ppm |
| Pb | 283.306 | 7.862 | -1.148 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 17.69 | -0.5533 | d | ppm |
| Pb | 283.306 | 15.67 | -0.6758 | d | ppm |
| mean | | | -0.7925 | d | ppm |
| sd | | | 0.3142 | | ppm |
| rsd% | | | 39.65 | | |
| corr | | | -0.8086 | | ppm |
| Cr | 284.325 | 238.4 | 0.02384 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 228.9 | 0.02118 | m | ppm |
| Cr | 284.325 | 245.7 | 0.02586 | m | ppm |
| mean | | | 0.02362 | m | ppm |
| sd | | | 0.002346 | | ppm |
| rsd% | | | 9.931 | | |
| corr | | | 0.02411 | | ppm |

| Sample | | Pectina Tejacote DX2 | |
|--------|---------|----------------------|------|
| El | nm | Intensity | Conc |
| Sc | 357.253 | 159200 | |
| Sc | 357.253 | 158000 | |
| Sc | 357.253 | 157900 | |
| mean | | 158400 | |
| sd | | 729.3 | |

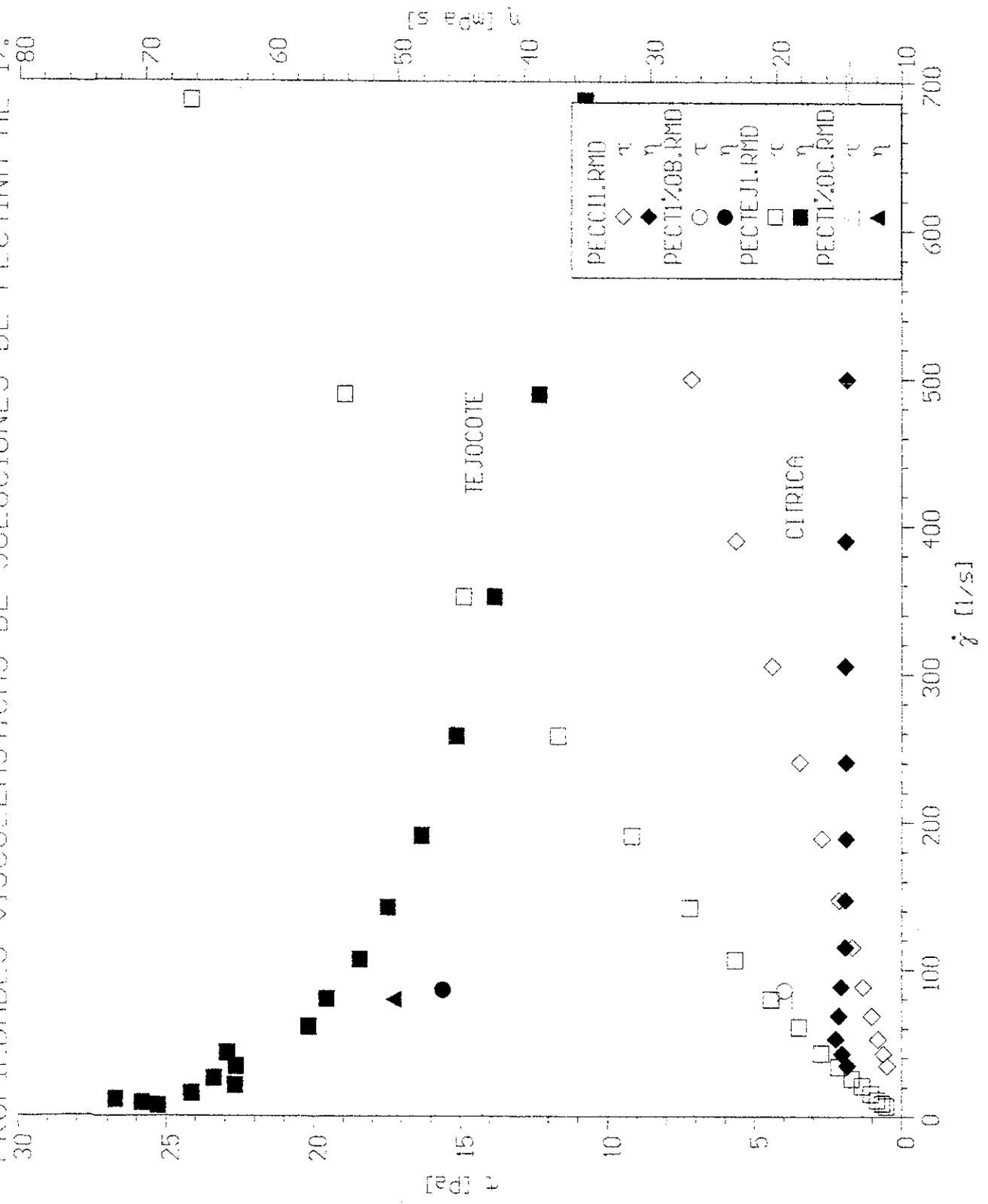
| | | | | |
|------|---------|-------|----------|-------|
| mean | | | 0.4685 | |
| Zn | 202.551 | 1897 | 0.3669 | m ppm |
| Zn | 202.551 | 1885 | 0.3642 | m ppm |
| Zn | 202.551 | 1890 | 0.3631 | m ppm |
| mean | | | 0.3647 | m ppm |
| sd | | | 0.001932 | ppm |
| rsd% | | | 0.5297 | |
| corr | | | 0.3757 | ppm |
| Fe | 259.940 | 251.9 | 0.02390 | m ppm |
| Fe | 259.940 | 293.2 | 0.02809 | m ppm |
| Fe | 259.940 | 301.9 | 0.02898 | m ppm |
| mean | | | 0.02699 | m ppm |
| sd | | | 0.002715 | ppm |
| rsd% | | | 10.06 | |
| corr | | | 0.02780 | ppm |
| Pb | 283.306 | 33.75 | 0.3978 | d ppm |
| Pb | 283.306 | 28.72 | 0.1129 | d ppm |
| Pb | 283.306 | 28.59 | 0.1052 | d ppm |
| mean | | | 0.2053 | d ppm |
| sd | | | 0.1667 | ppm |
| rsd% | | | 81.22 | |
| corr | | | 0.2115 | ppm |
| Cr | 284.325 | 226.1 | 0.02041 | m ppm |
| Cr | 284.325 | 217.4 | 0.01798 | m ppm |
| Cr | 284.325 | 219.5 | 0.01856 | m ppm |
| mean | | | 0.01898 | m ppm |
| sd | | | 0.001268 | ppm |
| rsd% | | | 6.680 | |
| corr | | | 0.01955 | ppm |

Standard 3

| El | nm | Intensity | Conc | |
|------|---------|-----------|-------|-----|
| Sc | 424.683 | 213100 | | |
| Sc | 424.683 | 215900 | | |
| Sc | 424.683 | 214000 | | |
| mean | | 214300 | | |
| sd | | 1426 | | |
| rsd% | | 0.6652 | | |
| K | 766.490 | 49750 | 150.0 | ppm |
| K | 766.490 | 47940 | 150.0 | ppm |
| K | 766.490 | 49600 | 150.0 | ppm |
| mean | | 49100 | | |
| sd | | 1007 | | |
| rsd% | | 2.051 | | |

Standard 2

| El | nm | Intensity | Conc | |
|------|---------|-----------|-------|-----|
| Sc | 424.683 | 202800 | | |
| Sc | 424.683 | 200000 | | |
| Sc | 424.683 | 198000 | | |
| mean | | 199933 | | |
| sd | | 1400 | | |
| rsd% | | 0.700 | | |
| K | 766.490 | 49000 | 150.0 | ppm |
| K | 766.490 | 48000 | 150.0 | ppm |
| K | 766.490 | 49500 | 150.0 | ppm |
| mean | | 48833 | | |
| sd | | 1000 | | |
| rsd% | | 2.051 | | |

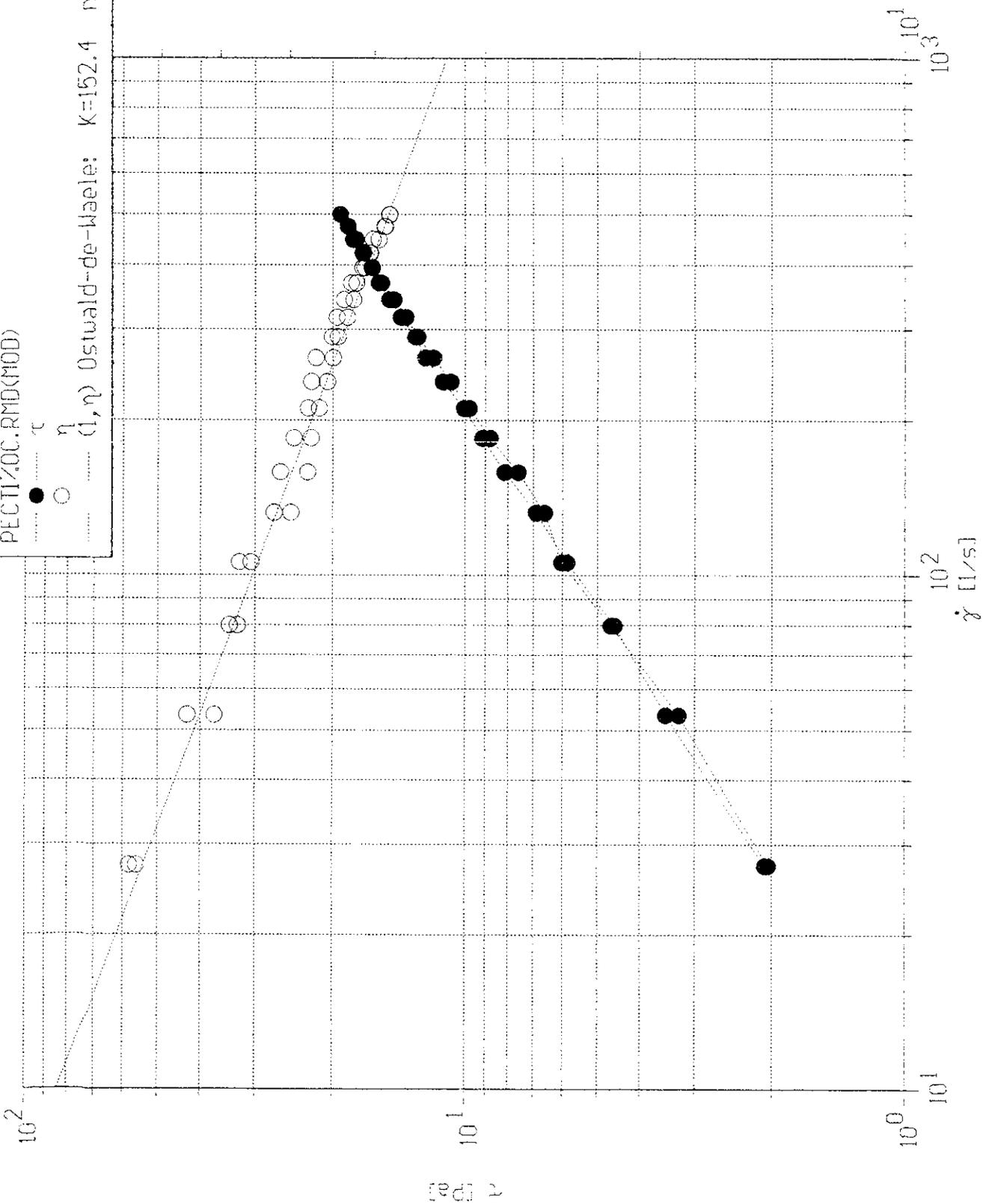


PECTI%OC.RMD(MOD)

● τ

○ η

--- (1, η) Ostwald-de-Waale: K=152.4 n=0.7792



τ [Pa s]

η [Pa s]

$\dot{\gamma}$ [$1/s$]

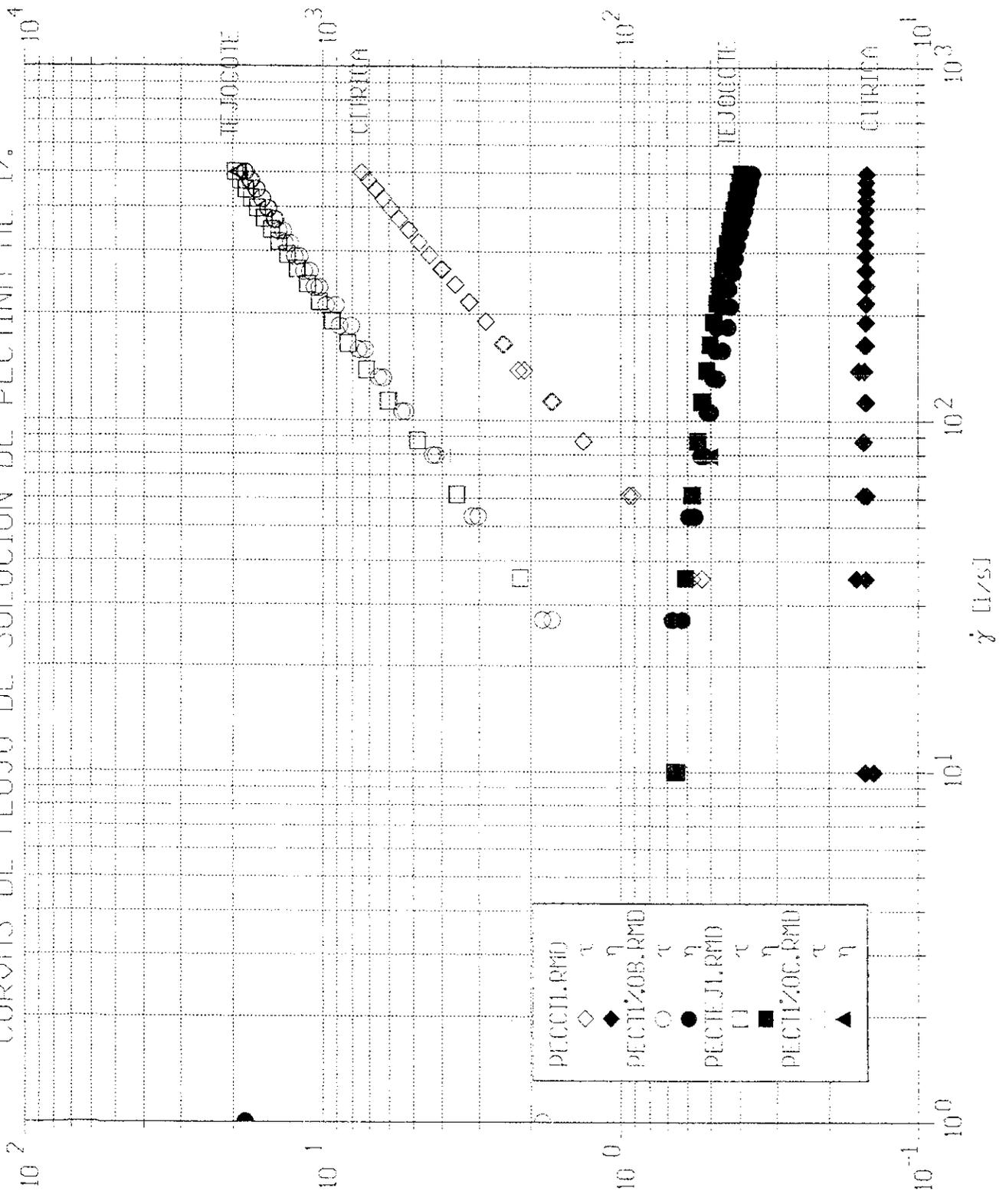
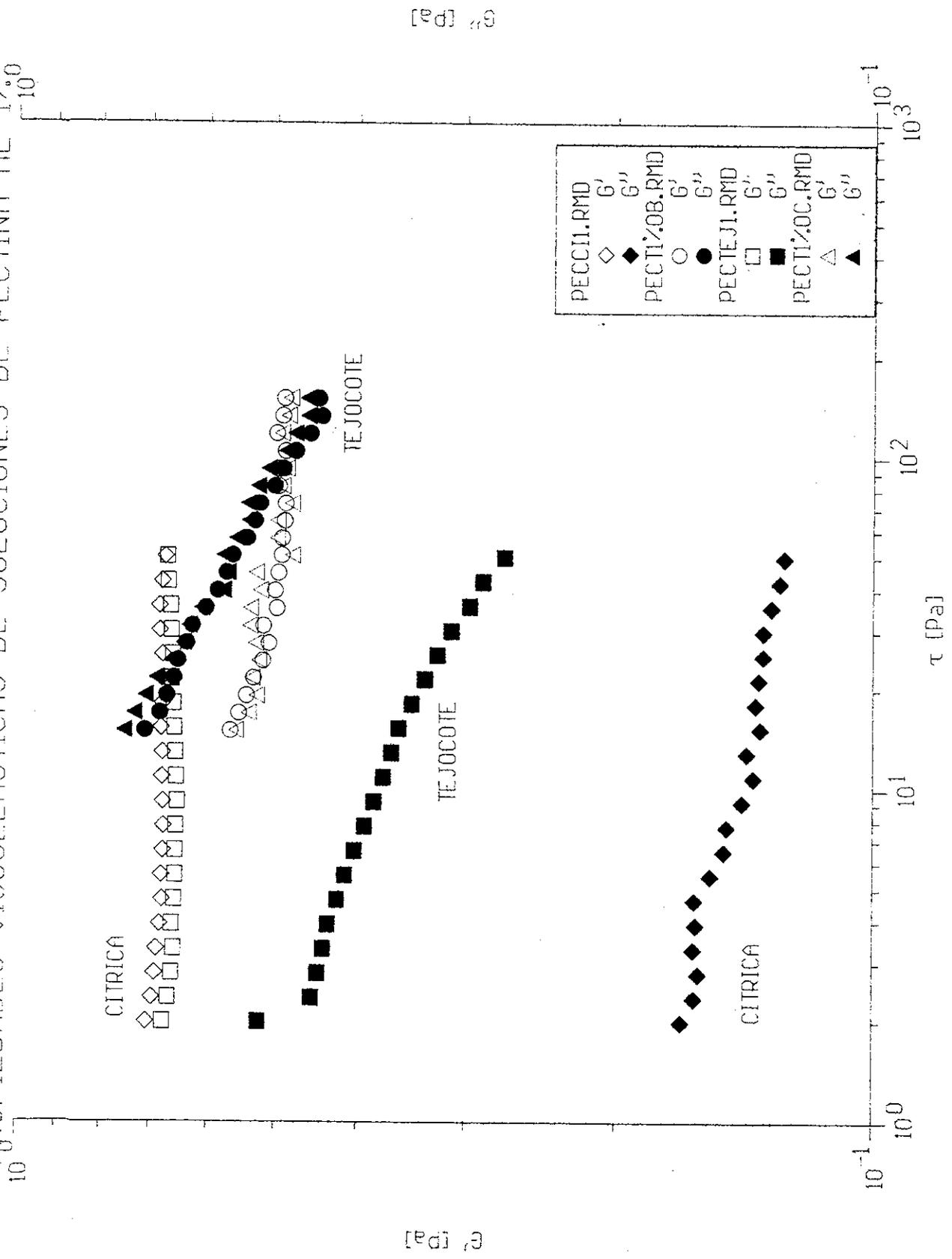
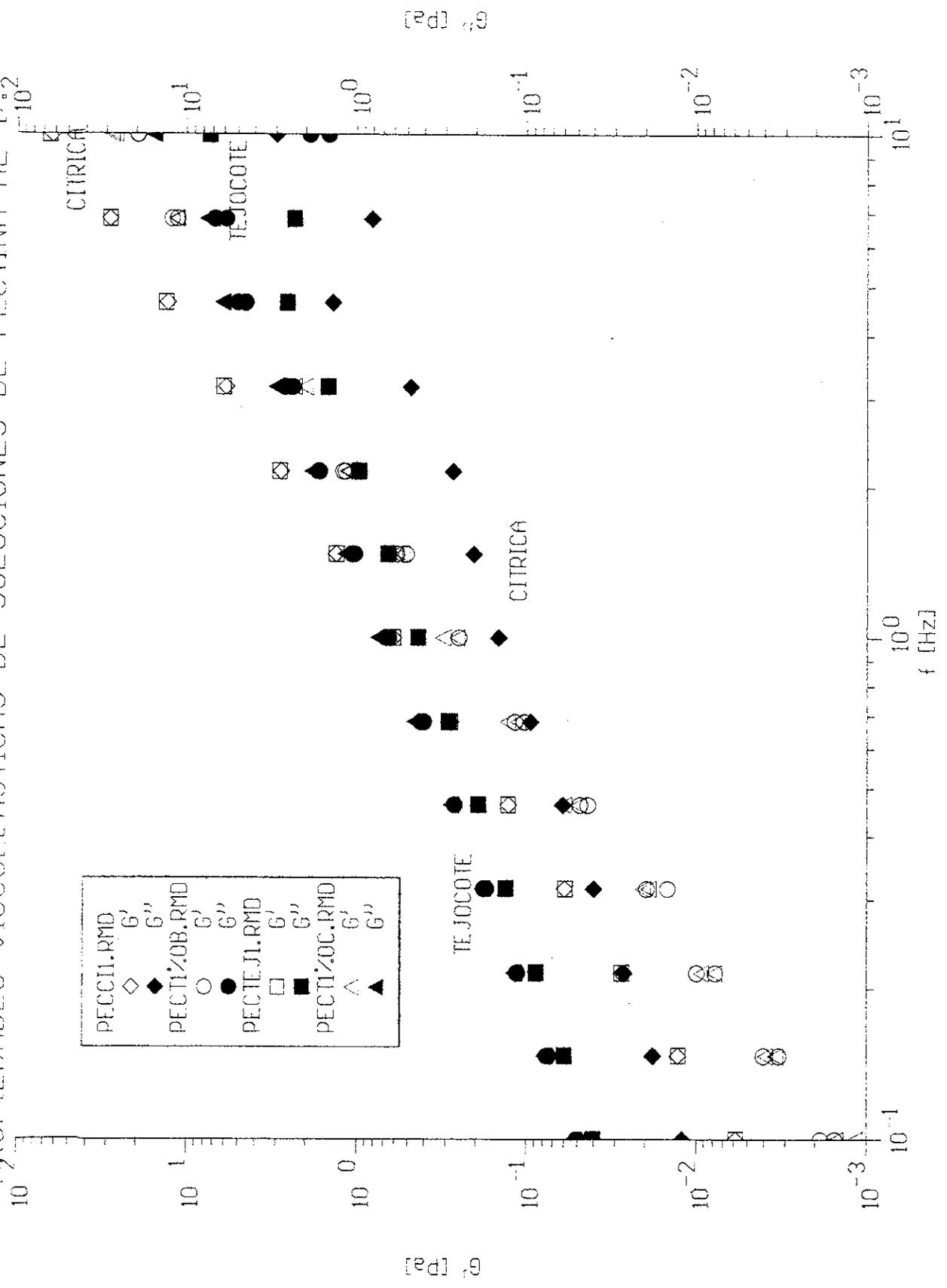


Fig. 1

PROPIEDADES VISCOELASTICAS DE SOLUCIONES DE PECTINA AL 1%⁰



PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE SOLUCIONES DE PECTINA AL 1%



10-31-97, 03:52
 : PECTINA TEJOCOTE 1%
 a sensor: Z20 DIN
 A: 4.46e+04 Factor M: 12.29
 o: A:\PECT1%OB.RMD

Operador: ANA MARIA

Sistema: RT20

| Seg/Nr [-] | Gp [1/s] | Tau [Pa] | Eta [mPa s] | t [s] | T [°C] |
|---------------|-------------|-------------|----------------|----------|-----------|
| 4: 1 | 86.165 | 4.000 | 46.4 | 674.860 | 25.000 |
| 5: 1 | 1.004 | 0.000 | 0 | 694.708 | 24.765 |
| 5: 2 | 27.246 | 1.838 | 67.4 | 710.716 | 24.910 |
| 5: 3 | 53.488 | 3.174 | 59.3 | 726.847 | 24.950 |
| 5: 4 | 79.794 | 4.315 | 54.1 | 742.855 | 25.080 |
| 5: 5 | 106.036 | 5.455 | 51.4 | 754.501 | 25.100 |
| 5: 6 | 132.304 | 6.550 | 49.5 | 769.195 | 25.110 |
| 5: 7 | 158.585 | 7.644 | 48.2 | 783.957 | 25.130 |
| 5: 8 | 184.827 | 8.833 | 47.8 | 799.983 | 25.170 |
| 5: 9 | 211.069 | 9.771 | 46.3 | 811.110 | 25.140 |
| 5: 10 | 237.362 | 10.715 | 45.1 | 823.991 | 25.240 |
| 5: 11 | 263.617 | 11.583 | 43.9 | 840.066 | 25.090 |
| 5: 12 | 289.885 | 12.471 | 43 | 850.778 | 25.100 |
| 5: 13 | 316.140 | 13.407 | 42.4 | 866.775 | 25.130 |
| 5: 14 | 342.395 | 14.079 | 41.1 | 880.365 | 25.150 |
| 5: 15 | 368.676 | 14.602 | 39.6 | 896.369 | 25.180 |
| 5: 16 | 394.931 | 15.311 | 38.8 | 907.979 | 25.190 |
| 5: 17 | 421.198 | 16.015 | 38 | 919.218 | 25.190 |
| 5: 18 | 447.453 | 16.751 | 37.4 | 927.884 | 25.060 |
| 5: 19 | 473.747 | 17.591 | 37.1 | 936.362 | 25.070 |
| 5: 20 | 499.976 | 18.311 | 36.6 | 946.154 | 25.060 |
| 6: 1 | 499.976 | 18.241 | 36.5 | 948.691 | 25.050 |
| 6: 2 | 500.027 | 18.183 | 36.4 | 968.722 | 25.030 |
| 6: 3 | 499.976 | 18.286 | 36.6 | 988.727 | 25.090 |
| 6: 4 | 499.950 | 18.119 | 36.2 | 1008.721 | 25.100 |
| 6: 5 | 499.950 | 18.165 | 36.3 | 1028.708 | 24.980 |
| 6: 6 | 499.976 | 18.200 | 36.4 | 1048.707 | 24.930 |
| 6: 7 | 500.027 | 18.181 | 36.4 | 1068.695 | 25.030 |
| 6: 8 | 500.027 | 18.015 | 36 | 1088.693 | 24.940 |
| 6: 9 | 500.002 | 18.195 | 36.4 | 1108.741 | 25.010 |
| 6: 10 | 500.027 | 18.193 | 36.4 | 1128.740 | 24.990 |
| 7: 1 | 499.989 | 18.105 | 36.2 | 1135.840 | 24.980 |
| 7: 2 | 473.734 | 17.394 | 36.7 | 1144.833 | 24.970 |
| 7: 3 | 447.453 | 16.655 | 37.2 | 1154.925 | 24.970 |
| 7: 4 | 421.198 | 15.976 | 37.9 | 1164.822 | 24.990 |
| 7: 5 | 394.943 | 15.201 | 38.5 | 1175.899 | 24.930 |
| 7: 6 | 368.663 | 14.436 | 39.2 | 1186.776 | 24.910 |
| 7: 7 | 342.395 | 13.646 | 39.9 | 1197.626 | 25.030 |
| 7: 8 | 316.153 | 12.869 | 40.7 | 1209.037 | 25.000 |
| 7: 9 | 289.885 | 11.992 | 41.4 | 1219.983 | 24.990 |
| 7: 10 | 263.630 | 11.086 | 42.1 | 1230.950 | 24.950 |
| 7: 11 | 237.337 | 10.320 | 43.5 | 1243.601 | 24.950 |
| 7: 12 | 211.082 | 9.096 | 43.1 | 1259.584 | 24.940 |
| 7: 13 | 184.840 | 8.093 | 43.8 | 1270.817 | 24.875 |
| 7: 14 | 158.559 | 7.242 | 45.7 | 1285.381 | 24.960 |
| 7: 15 | 132.278 | 6.302 | 47.6 | 1301.415 | 24.950 |
| 7: 16 | 106.024 | 5.317 | 50.2 | 1317.381 | 24.920 |
| 7: 17 | 79.781 | 4.201 | 52.7 | 1333.350 | 24.880 |

a: 10-31-97, 03:52
 re: PECTINA TEJOCOTE 1%
 ema sensor: Z20 DIN
 or A: 4.46e+04 Factor M: 12.29
 ero: A:\PECT1%OB.RMD

Operador: ANA MARIA

Hoja de datos HAAKE R

Sistema: RT20

| Seg/Nr [-] | Gp [1/s] | Tau [Pa] | Eta [mPa s] | t [s] | T [°C] |
|---------------|-------------|-------------|----------------|----------|-----------|
| 4: 1 | 86.165 | 4.000 | 46.4 | 674.860 | 25.000 |
| 5: 1 | 1.004 | 0.000 | 0 | 694.708 | 24.765 |
| 5: 2 | 27.246 | 1.838 | 67.4 | 710.716 | 24.910 |
| 5: 3 | 53.488 | 3.174 | 59.3 | 726.847 | 24.950 |
| 5: 4 | 79.794 | 4.315 | 54.1 | 742.855 | 25.080 |
| 5: 5 | 106.036 | 5.455 | 51.4 | 754.501 | 25.100 |
| 5: 6 | 132.304 | 6.550 | 49.5 | 769.195 | 25.110 |
| 5: 7 | 158.585 | 7.644 | 48.2 | 783.957 | 25.130 |
| 5: 8 | 184.827 | 8.833 | 47.8 | 799.983 | 25.170 |
| 5: 9 | 211.069 | 9.771 | 46.3 | 811.110 | 25.140 |
| 5: 10 | 237.362 | 10.715 | 45.1 | 823.991 | 25.240 |
| 5: 11 | 263.617 | 11.583 | 43.9 | 840.066 | 25.090 |
| 5: 12 | 289.885 | 12.471 | 43 | 850.778 | 25.100 |
| 5: 13 | 316.140 | 13.407 | 42.4 | 866.775 | 25.130 |
| 5: 14 | 342.395 | 14.079 | 41.1 | 880.365 | 25.150 |
| 5: 15 | 368.676 | 14.602 | 39.6 | 896.369 | 25.180 |
| 5: 16 | 394.931 | 15.311 | 38.8 | 907.979 | 25.190 |
| 5: 17 | 421.198 | 16.015 | 38 | 919.218 | 25.190 |
| 5: 18 | 447.453 | 16.751 | 37.4 | 927.884 | 25.060 |
| 5: 19 | 473.747 | 17.591 | 37.1 | 936.362 | 25.070 |
| 5: 20 | 499.976 | 18.311 | 36.6 | 946.154 | 25.060 |
| 6: 1 | 499.976 | 18.241 | 36.5 | 948.691 | 25.050 |
| 6: 2 | 500.027 | 18.183 | 36.4 | 968.722 | 25.030 |
| 6: 3 | 499.976 | 18.286 | 36.6 | 988.727 | 25.090 |
| 6: 4 | 499.950 | 18.119 | 36.2 | 1008.721 | 25.100 |
| 6: 5 | 499.950 | 18.165 | 36.3 | 1028.708 | 24.980 |
| 6: 6 | 499.976 | 18.200 | 36.4 | 1048.707 | 24.930 |
| 6: 7 | 500.027 | 18.181 | 36.4 | 1068.695 | 25.030 |
| 6: 8 | 500.027 | 18.015 | 36 | 1088.693 | 24.940 |
| 6: 9 | 500.002 | 18.195 | 36.4 | 1108.741 | 25.010 |
| 6: 10 | 500.027 | 18.193 | 36.4 | 1128.740 | 24.990 |
| 7: 1 | 499.989 | 18.105 | 36.2 | 1135.840 | 24.980 |
| 7: 2 | 473.734 | 17.394 | 36.7 | 1144.833 | 24.970 |
| 7: 3 | 447.453 | 16.655 | 37.2 | 1154.925 | 24.970 |
| 7: 4 | 421.198 | 15.976 | 37.9 | 1164.822 | 24.990 |
| 7: 5 | 394.943 | 15.201 | 38.5 | 1175.899 | 24.930 |
| 7: 6 | 368.663 | 14.436 | 39.2 | 1186.776 | 24.910 |
| 7: 7 | 342.395 | 13.646 | 39.9 | 1197.626 | 25.030 |
| 7: 8 | 316.153 | 12.869 | 40.7 | 1209.037 | 25.000 |
| 7: 9 | 289.885 | 11.992 | 41.4 | 1219.983 | 24.990 |
| 7: 10 | 263.630 | 11.086 | 42.1 | 1230.950 | 24.950 |
| 7: 11 | 237.337 | 10.320 | 43.5 | 1243.601 | 24.950 |
| 7: 12 | 211.082 | 9.096 | 43.1 | 1259.584 | 24.940 |
| 7: 13 | 184.840 | 8.093 | 43.8 | 1270.817 | 24.875 |
| 7: 14 | 158.559 | 7.242 | 45.7 | 1285.381 | 24.960 |
| 7: 15 | 132.278 | 6.302 | 47.6 | 1301.415 | 24.950 |
| 7: 16 | 106.024 | 5.317 | 50.2 | 1317.381 | 24.920 |
| 7: 17 | 79.781 | 4.201 | 52.7 | 1333.350 | 24.880 |

Fecha: 08-14-97, 06:06
 Nombre: PECTINA CITRICA AL 1%
 Tema sensor: Z40 DIN
 Factor A: 5575 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECC11.RMD

Operador: ROCIO

Hoja de datos HAAKE R

Sistema: RT20

| Seg/Nr [-] | Gp [1/s] | Tau [Pa] | Eta [mPa s] | t [s] | T [°C] |
|---------------|-------------|-------------|----------------|----------|-----------|
| 3: 1 | 34.852 | 0.500 | 14.3 | 310.795 | 25.000 |
| 3: 2 | 43.205 | 0.637 | 14.7 | 333.140 | 25.100 |
| 3: 3 | 53.218 | 0.812 | 15.3 | 346.953 | 25.070 |
| 3: 4 | 68.765 | 1.035 | 15 | 370.145 | 25.150 |
| 3: 5 | 88.778 | 1.318 | 14.8 | 389.202 | 25.070 |
| 3: 6 | 115.779 | 1.680 | 14.5 | 406.867 | 25.130 |
| 3: 7 | 147.787 | 2.141 | 14.5 | 422.348 | 25.210 |
| 3: 8 | 189.306 | 2.728 | 14.4 | 435.885 | 25.310 |
| 3: 9 | 241.069 | 3.476 | 14.4 | 450.436 | 25.430 |
| 3: 10 | 305.844 | 4.429 | 14.5 | 463.289 | 25.560 |
| 3: 11 | 390.259 | 5.644 | 14.5 | 477.150 | 24.990 |
| 3: 12 | 500.028 | 7.192 | 14.4 | 493.843 | 25.040 |
| 4: 1 | 9.974 | 0.151 | 15.1 | 513.758 | 24.200 |
| 4: 2 | 35.753 | 0.537 | 15 | 529.868 | 24.300 |
| 4: 3 | 61.545 | 0.941 | 15.3 | 545.972 | 24.450 |
| 4: 4 | 87.362 | 1.333 | 15.3 | 562.012 | 24.975 |
| 4: 5 | 113.141 | 1.691 | 14.9 | 577.457 | 25.030 |
| 4: 6 | 138.945 | 2.206 | 15.9 | 588.889 | 25.115 |
| 4: 7 | 164.711 | 2.464 | 15 | 604.891 | 25.200 |
| 4: 8 | 190.515 | 2.845 | 14.9 | 617.977 | 25.260 |
| 4: 9 | 216.307 | 3.252 | 15 | 628.899 | 25.320 |
| 4: 10 | 242.112 | 3.618 | 14.9 | 638.422 | 25.340 |
| 4: 11 | 267.890 | 4.023 | 15 | 648.039 | 25.420 |
| 4: 12 | 293.669 | 4.408 | 15 | 656.349 | 25.100 |
| 4: 13 | 319.473 | 4.792 | 15 | 665.722 | 25.150 |
| 4: 14 | 345.252 | 5.184 | 15 | 674.231 | 25.190 |
| 4: 15 | 371.044 | 5.563 | 15 | 682.792 | 25.210 |
| 4: 16 | 396.810 | 5.933 | 15 | 691.195 | 25.210 |
| 4: 17 | 422.614 | 6.302 | 14.9 | 701.456 | 25.190 |
| 4: 18 | 448.406 | 6.683 | 14.9 | 709.136 | 25.180 |
| 4: 19 | 474.197 | 7.058 | 14.9 | 716.256 | 25.210 |
| 4: 20 | 499.989 | 7.427 | 14.9 | 723.927 | 25.255 |
| 5: 1 | 499.976 | 7.450 | 14.9 | 727.267 | 25.190 |
| 5: 2 | 499.976 | 7.429 | 14.9 | 747.323 | 25.300 |
| 5: 3 | 499.976 | 7.499 | 15 | 767.304 | 25.220 |
| 5: 4 | 500.002 | 7.480 | 15 | 787.307 | 25.270 |
| 5: 5 | 500.002 | 7.455 | 14.9 | 807.303 | 25.220 |
| 5: 6 | 500.002 | 7.435 | 14.9 | 827.306 | 25.290 |
| 5: 7 | 499.976 | 7.412 | 14.8 | 847.294 | 24.900 |
| 5: 8 | 499.976 | 7.450 | 14.9 | 867.277 | 24.940 |
| 5: 9 | 500.002 | 7.442 | 14.9 | 887.336 | 24.880 |
| 5: 10 | 499.976 | 7.432 | 14.9 | 907.339 | 24.910 |
| 6: 1 | 499.989 | 7.427 | 14.9 | 913.293 | 24.900 |
| 6: 2 | 474.197 | 7.065 | 14.9 | 920.902 | 24.890 |
| 6: 3 | 448.406 | 6.654 | 14.8 | 928.203 | 24.880 |
| 6: 4 | 422.627 | 6.307 | 14.9 | 936.574 | 24.890 |
| 6: 5 | 396.835 | 5.939 | 15 | 944.957 | 24.880 |
| 6: 6 | 371.031 | 5.566 | 15 | 955.290 | 24.830 |

Hoja de datos HAAKE RM 3.11.01 P FESC
 Fecha: 08-14-97, 06:54 Operador: ROCIO
 Muestra: PECTINA TEJOCOTE 1%
 Tema sensor: Z40 DIN Sistema: RT20
 Factor A: 5575 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECTEJ1.RMD

| Seg/Nr [-] | Gp [1/s] | Tau [Pa] | Eta [mPa s] | t [s] | T [°C] |
|---------------|-------------|-------------|----------------|----------|-----------|
| 4: 1 | 9.974 | 0.660 | 66.1 | 680.127 | 23.950 |
| 4: 2 | 35.766 | 2.171 | 60.7 | 693.041 | 24.240 |
| 4: 3 | 61.570 | 3.566 | 57.9 | 700.937 | 24.390 |
| 4: 4 | 87.349 | 4.832 | 55.3 | 710.389 | 24.580 |
| 4: 5 | 113.141 | 6.071 | 53.7 | 717.763 | 24.640 |
| 4: 6 | 138.932 | 7.170 | 51.6 | 728.371 | 24.650 |
| 4: 7 | 164.711 | 8.262 | 50.2 | 734.450 | 24.650 |
| 4: 8 | 190.528 | 9.310 | 48.9 | 741.380 | 24.800 |
| 4: 9 | 216.307 | 10.295 | 47.6 | 746.672 | 24.720 |
| 4: 10 | 242.086 | 11.263 | 46.5 | 752.720 | 25.620 |
| 4: 11 | 267.877 | 12.214 | 45.6 | 758.248 | 25.640 |
| 4: 12 | 293.695 | 13.121 | 44.7 | 765.997 | 26.620 |
| 4: 13 | 319.486 | 14.027 | 43.9 | 770.932 | 24.475 |
| 4: 14 | 345.239 | 14.870 | 43.1 | 777.058 | 29.020 |
| 4: 15 | 371.044 | 15.701 | 42.3 | 782.495 | 26.140 |
| 4: 16 | 396.822 | 16.515 | 41.6 | 787.157 | 25.810 |
| 4: 17 | 422.601 | 17.285 | 40.9 | 792.348 | 25.620 |
| 4: 18 | 448.406 | 18.078 | 40.3 | 797.058 | 25.800 |
| 4: 19 | 474.197 | 18.849 | 39.7 | 801.612 | 25.780 |
| 4: 20 | 499.989 | 19.624 | 39.2 | 806.455 | 25.740 |
| 5: 1 | 500.002 | 19.538 | 39.1 | 843.679 | 24.900 |
| 5: 2 | 500.002 | 19.582 | 39.2 | 863.603 | 24.970 |
| 5: 3 | 499.976 | 19.522 | 39 | 883.661 | 25.020 |
| 5: 4 | 499.976 | 19.569 | 39.1 | 903.650 | 25.060 |
| 5: 5 | 500.002 | 19.576 | 39.2 | 923.646 | 24.950 |
| 5: 6 | 500.027 | 19.531 | 39.1 | 943.640 | 24.820 |
| 5: 7 | 499.976 | 19.527 | 39.1 | 963.635 | 24.820 |
| 5: 8 | 499.976 | 19.514 | 39 | 983.628 | 25.020 |
| 5: 9 | 499.976 | 19.547 | 39.1 | 1003.625 | 24.850 |
| 5: 10 | 499.976 | 19.514 | 39 | 1023.674 | 25.490 |
| 6: 1 | 499.976 | 19.541 | 39.1 | 1028.834 | 25.100 |
| 6: 2 | 474.197 | 18.804 | 39.7 | 1033.287 | 25.140 |
| 6: 3 | 448.406 | 18.027 | 40.2 | 1038.130 | 25.130 |
| 6: 4 | 422.601 | 17.252 | 40.8 | 1043.603 | 24.670 |
| 6: 5 | 396.822 | 16.467 | 41.5 | 1048.798 | 28.160 |
| 6: 6 | 371.031 | 15.629 | 42.1 | 1055.099 | 27.930 |
| 6: 7 | 345.239 | 14.824 | 42.9 | 1060.385 | 27.250 |
| 6: 8 | 319.461 | 13.974 | 43.7 | 1066.025 | 25.090 |
| 6: 9 | 293.695 | 13.062 | 44.5 | 1071.942 | 25.230 |
| 6: 10 | 267.903 | 12.127 | 45.3 | 1077.534 | 24.900 |
| 6: 11 | 242.099 | 11.216 | 46.3 | 1083.422 | 24.950 |
| 6: 12 | 216.294 | 10.251 | 47.4 | 1088.893 | 25.010 |
| 6: 13 | 190.528 | 9.251 | 48.6 | 1095.367 | 24.990 |
| 6: 14 | 164.724 | 8.222 | 49.9 | 1101.686 | 24.960 |
| 6: 15 | 138.932 | 7.130 | 51.3 | 1109.264 | 24.985 |
| 6: 16 | 113.128 | 6.005 | 53.1 | 1115.973 | 25.150 |
| 6: 17 | 87.349 | 4.803 | 55 | 1125.488 | 25.085 |
| 6: 18 | 61.557 | 3.529 | 57.3 | 1135.936 | 24.880 |

Hoja de datos HAAKE RM 3.11.01 P FESC
 Fecha: 08-14-97, 06:54 Operador: ROCIO
 Nombre: PECTINA TEJOCOTE 1%
 Tema sensor: Z40 DIN Sistema: RT20
 Factor A: 5575 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECTEJ1.RMD

| Seg/Nr [-] | f [Hz] | G' [Pa] | G'' [Pa] | Eta* [mPa s] | tan(δ) [-] |
|---------------|-----------|------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1: 1 | 1.000 | 0.675 | 0.523 | 136 | 0.774 |
| 1: 2 | 1.000 | 0.665 | 0.452 | 128 | 0.680 |
| 1: 3 | 1.000 | 0.659 | 0.444 | 127 | 0.674 |
| 1: 4 | 1.000 | 0.656 | 0.438 | 126 | 0.668 |
| 1: 5 | 1.000 | 0.66 | 0.433 | 126 | 0.656 |
| 1: 6 | 1.000 | 0.655 | 0.422 | 124 | 0.644 |
| 1: 7 | 1.000 | 0.654 | 0.413 | 123 | 0.632 |
| 1: 8 | 1.000 | 0.653 | 0.403 | 122 | 0.616 |
| 1: 9 | 1.000 | 0.653 | 0.392 | 121 | 0.600 |
| 1: 10 | 1.000 | 0.651 | 0.382 | 120 | 0.587 |
| 1: 11 | 1.000 | 0.653 | 0.373 | 120 | 0.571 |
| 1: 12 | 1.000 | 0.654 | 0.365 | 119 | 0.558 |
| 1: 13 | 1.000 | 0.655 | 0.358 | 119 | 0.546 |
| 1: 14 | 1.000 | 0.657 | 0.345 | 118 | 0.526 |
| 1: 15 | 1.000 | 0.66 | 0.334 | 118 | 0.505 |
| 1: 16 | 1.000 | 0.659 | 0.323 | 117 | 0.490 |
| 1: 17 | 1.000 | 0.661 | 0.311 | 116 | 0.470 |
| 1: 18 | 1.000 | 0.663 | 0.296 | 115 | 0.447 |
| 1: 19 | 1.000 | 0.667 | 0.286 | 116 | 0.429 |
| 1: 20 | 1.000 | 0.669 | 0.27 | 115 | 0.403 |
| 2: 1 | 0.100 | 0.00582 | 0.0404 | 64.9 | 6.934 |
| 2: 2 | 0.147 | 0.0126 | 0.0593 | 65.7 | 4.694 |
| 2: 3 | 0.215 | 0.0273 | 0.0872 | 67.6 | 3.192 |
| 2: 4 | 0.316 | 0.0588 | 0.132 | 72.6 | 2.238 |
| 2: 5 | 0.464 | 0.128 | 0.193 | 79.4 | 1.504 |
| 2: 6 | 0.681 | 0.279 | 0.287 | 93.7 | 1.030 |
| 2: 7 | 1.000 | 0.607 | 0.433 | 119 | 0.714 |
| 2: 8 | 1.470 | 1.32 | 0.651 | 159 | 0.494 |
| 2: 9 | 2.150 | 2.82 | 0.971 | 221 | 0.344 |
| 2: 10 | 3.160 | 6.03 | 1.47 | 313 | 0.244 |
| 2: 11 | 4.640 | 13.2 | 2.55 | 461 | 0.194 |
| 2: 12 | 6.810 | 28.4 | 2.33 | 667 | 0.082 |
| 2: 13 | 10.000 | 64 | 7.3 | 1.02E+03 | 0.114 |

Fecha: 08-14-97, 06:06 Hoja de datos HAAKE RM 3.11.01 P FESC
 Nombre: PECTINA CITRICA AL 1% Operador: ROCIO
 Tema sensor: Z40 DIN Sistema: RT20
 Motor A: 5575 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECCI1.RMD

| Seg/Nr [-] | f [Hz] | G' [Pa] | G'' [Pa] | Eta* [mPa s] | tan(δ) [-] |
|---------------|-----------|------------|-------------|-----------------|---------------|
| 1: 1 | 1.000 | 0.707 | 0.167 | 116 | 0.237 |
| 1: 2 | 1.000 | 0.696 | 0.162 | 114 | 0.232 |
| 1: 3 | 1.000 | 0.691 | 0.16 | 113 | 0.231 |
| 1: 4 | 1.000 | 0.688 | 0.162 | 113 | 0.236 |
| 1: 5 | 1.000 | 0.683 | 0.161 | 112 | 0.236 |
| 1: 6 | 1.000 | 0.678 | 0.162 | 111 | 0.238 |
| 1: 7 | 1.000 | 0.68 | 0.155 | 111 | 0.228 |
| 1: 8 | 1.000 | 0.677 | 0.149 | 110 | 0.221 |
| 1: 9 | 1.000 | 0.676 | 0.148 | 110 | 0.219 |
| 1: 10 | 1.000 | 0.678 | 0.142 | 110 | 0.210 |
| 1: 11 | 1.000 | 0.679 | 0.138 | 110 | 0.203 |
| 1: 12 | 1.000 | 0.678 | 0.14 | 110 | 0.207 |
| 1: 13 | 1.000 | 0.681 | 0.135 | 110 | 0.199 |
| 1: 14 | 1.000 | 0.678 | 0.137 | 110 | 0.202 |
| 1: 15 | 1.000 | 0.679 | 0.136 | 110 | 0.200 |
| 1: 16 | 1.000 | 0.678 | 0.134 | 110 | 0.198 |
| 1: 17 | 1.000 | 0.684 | 0.134 | 111 | 0.197 |
| 1: 18 | 1.000 | 0.684 | 0.132 | 111 | 0.192 |
| 1: 19 | 1.000 | 0.679 | 0.129 | 110 | 0.189 |
| 1: 20 | 1.000 | 0.674 | 0.127 | 109 | 0.189 |
| 2: 1 | 0.100 | 0.00591 | 0.0122 | 21.6 | 2.063 |
| 2: 2 | 0.147 | 0.0129 | 0.018 | 24 | 1.402 |
| 2: 3 | 0.215 | 0.0276 | 0.0267 | 28.4 | 0.969 |
| 2: 4 | 0.316 | 0.0599 | 0.0404 | 36.4 | 0.674 |
| 2: 5 | 0.464 | 0.129 | 0.0613 | 49 | 0.476 |
| 2: 6 | 0.681 | 0.282 | 0.0955 | 69.5 | 0.339 |
| 2: 7 | 1.000 | 0.612 | 0.147 | 100 | 0.240 |
| 2: 8 | 1.470 | 1.34 | 0.206 | 146 | 0.154 |
| 2: 9 | 2.150 | 2.8 | 0.273 | 208 | 0.097 |
| 2: 10 | 3.160 | 5.88 | 0.484 | 297 | 0.082 |
| 2: 11 | 4.640 | 13 | 1.39 | 449 | 0.107 |
| 2: 12 | 6.810 | 28.7 | 0.818 | 671 | 0.029 |
| 2: 13 | 10.000 | 62.5 | 2.99 | 996 | 0.048 |

Hoja de datos HAAKE RM 3.11.01 P FESC
 Fecha: 10-31-97, 03:22 Operador: ANA MARIA
 Nombre: PECTINA TEJOCOTE 1%
 Tema sensor: Z20 DIN Sistema: RT20
 Factor A: 4.46e+04 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECT1%OC.RMD

| Seg/Nr [-] | f [Hz] | G' [Pa] | G'' [Pa] | Eta* [mPa s] | tan(δ) [-] |
|---------------|-----------|------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1: 1 | 1.000 | 0.556 | 0.751 | 149 | 1.350 |
| 1: 2 | 1.000 | 0.537 | 0.731 | 144 | 1.361 |
| 1: 3 | 1.000 | 0.526 | 0.709 | 140 | 1.349 |
| 1: 4 | 1.000 | 0.532 | 0.688 | 138 | 1.293 |
| 1: 5 | 1.000 | 0.523 | 0.661 | 134 | 1.263 |
| 1: 6 | 1.000 | 0.528 | 0.641 | 132 | 1.215 |
| 1: 7 | 1.000 | 0.535 | 0.631 | 132 | 1.178 |
| 1: 8 | 1.000 | 0.535 | 0.61 | 129 | 1.140 |
| 1: 9 | 1.000 | 0.521 | 0.576 | 124 | 1.107 |
| 1: 10 | 1.000 | 0.527 | 0.569 | 123 | 1.078 |
| 1: 11 | 1.000 | 0.478 | 0.575 | 119 | 1.203 |
| 1: 12 | 1.000 | 0.498 | 0.556 | 119 | 1.117 |
| 1: 13 | 1.000 | 0.498 | 0.537 | 117 | 1.080 |
| 1: 14 | 1.000 | 0.479 | 0.539 | 115 | 1.126 |
| 1: 15 | 1.000 | 0.491 | 0.525 | 114 | 1.069 |
| 1: 16 | 1.000 | 0.486 | 0.51 | 112 | 1.051 |
| 1: 17 | 1.000 | 0.482 | 0.486 | 109 | 1.009 |
| 1: 18 | 1.000 | 0.492 | 0.475 | 109 | 0.964 |
| 1: 19 | 1.000 | 0.483 | 0.459 | 106 | 0.950 |
| 1: 20 | 1.000 | 0.481 | 0.459 | 106 | 0.954 |
| 2: 1 | 0.100 | 0.00117 | 0.053 | 84.4 | 45.404 |
| 2: 2 | 0.147 | 0.00341 | 0.0788 | 85.4 | 23.148 |
| 2: 3 | 0.215 | 0.0078 | 0.119 | 88.6 | 15.313 |
| 2: 4 | 0.316 | 0.0191 | 0.182 | 92.3 | 9.539 |
| 2: 5 | 0.464 | 0.0602 | 0.282 | 98.8 | 4.679 |
| 2: 6 | 0.681 | 0.13 | 0.46 | 112 | 3.547 |
| 2: 7 | 1.000 | 0.256 | 0.749 | 126 | 2.925 |
| 2: 8 | 1.470 | 0.598 | 1.12 | 138 | 1.880 |
| 2: 9 | 2.150 | 1.15 | 1.85 | 161 | 1.610 |
| 2: 10 | 3.160 | 2.01 | 2.93 | 179 | 1.458 |
| 2: 11 | 4.640 | 4.82 | 5.54 | 252 | 1.148 |
| 2: 12 | 6.810 | 11.5 | 7.58 | 321 | 0.662 |
| 2: 13 | 10.000 | 26.7 | 15.7 | 492 | 0.587 |
| 3: 1 | 10.000 | 27.8 | 16 | 511 | 0.574 |
| 3: 2 | 6.810 | 11.6 | 7.12 | 318 | 0.616 |
| 3: 3 | 4.640 | 5.08 | 6.14 | 273 | 1.209 |
| 3: 4 | 3.160 | 2.35 | 2.98 | 191 | 1.270 |
| 3: 5 | 2.150 | 1.12 | 1.8 | 157 | 1.606 |
| 3: 6 | 1.470 | 0.544 | 1.18 | 140 | 2.163 |
| 3: 7 | 1.000 | 0.31 | 0.715 | 124 | 2.302 |
| 3: 8 | 0.681 | 0.113 | 0.437 | 106 | 3.880 |
| 3: 9 | 0.464 | 0.0497 | 0.278 | 96.8 | 5.587 |
| 3: 10 | 0.316 | 0.0207 | 0.182 | 92.2 | 8.785 |
| 3: 11 | 0.215 | 0.00934 | 0.117 | 86.8 | 12.510 |
| 3: 12 | 0.147 | 0.00392 | 0.0775 | 84 | 19.767 |
| 3: 13 | 0.100 | 0.00151 | 0.0522 | 83.2 | 34.572 |

Hoja de datos HAAKE RM 3.11.01 P FESC
 Fecha: 10-31-97, 03:52 Operador: ANA MARIA
 Muestra: PECTINA TEJOCOTE 1%
 Tema sensor: Z20 DIN Sistema: RT20
 Factor A: 4.46e+04 Factor M: 12.29
 Archivo: A:\PECT1%OB.RMD

| Seg/Nr [-] | f [Hz] | G' [Pa] | G'' [Pa] | Eta* [mPa s] | tan(δ) [-] |
|---------------|-----------|------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1: 1 | 1.000 | 0.566 | 0.711 | 145 | 1.257 |
| 1: 2 | 1.000 | 0.553 | 0.683 | 140 | 1.235 |
| 1: 3 | 1.000 | 0.541 | 0.671 | 137 | 1.240 |
| 1: 4 | 1.000 | 0.531 | 0.658 | 135 | 1.238 |
| 1: 5 | 1.000 | 0.518 | 0.651 | 132 | 1.258 |
| 1: 6 | 1.000 | 0.509 | 0.636 | 130 | 1.249 |
| 1: 7 | 1.000 | 0.517 | 0.627 | 129 | 1.211 |
| 1: 8 | 1.000 | 0.499 | 0.604 | 125 | 1.212 |
| 1: 9 | 1.000 | 0.502 | 0.585 | 123 | 1.167 |
| 1: 10 | 1.000 | 0.497 | 0.572 | 121 | 1.151 |
| 1: 11 | 1.000 | 0.493 | 0.563 | 119 | 1.142 |
| 1: 12 | 1.000 | 0.492 | 0.541 | 116 | 1.100 |
| 1: 13 | 1.000 | 0.489 | 0.53 | 115 | 1.084 |
| 1: 14 | 1.000 | 0.488 | 0.522 | 114 | 1.071 |
| 1: 15 | 1.000 | 0.497 | 0.502 | 112 | 1.011 |
| 1: 16 | 1.000 | 0.496 | 0.491 | 111 | 0.989 |
| 1: 17 | 1.000 | 0.488 | 0.474 | 108 | 0.971 |
| 1: 18 | 1.000 | 0.5 | 0.456 | 108 | 0.912 |
| 1: 19 | 1.000 | 0.492 | 0.442 | 105 | 0.899 |
| 1: 20 | 1.000 | 0.49 | 0.446 | 105 | 0.911 |
| 2: 1 | 0.100 | 0.00154 | 0.0509 | 81 | 32.973 |
| 2: 2 | 0.147 | 0.0033 | 0.0765 | 82.9 | 23.187 |
| 2: 3 | 0.215 | 0.00777 | 0.115 | 85.3 | 14.792 |
| 2: 4 | 0.316 | 0.0149 | 0.18 | 91.1 | 12.076 |
| 2: 5 | 0.464 | 0.0437 | 0.269 | 93.5 | 6.155 |
| 2: 6 | 0.681 | 0.104 | 0.423 | 102 | 4.064 |
| 2: 7 | 1.000 | 0.251 | 0.681 | 116 | 2.710 |
| 2: 8 | 1.470 | 0.586 | 1.04 | 129 | 1.769 |
| 2: 9 | 2.150 | 1.21 | 1.66 | 152 | 1.373 |
| 2: 10 | 3.160 | 2.38 | 2.63 | 179 | 1.105 |
| 2: 11 | 4.640 | 4.58 | 4.53 | 221 | 0.988 |
| 2: 12 | 6.810 | 11.4 | 6.89 | 312 | 0.604 |
| 2: 13 | 10.000 | 19.7 | 1.9 | 315 | 0.096 |
| 3: 1 | 10.000 | 19.6 | 1.47 | 313 | 0.075 |
| 3: 2 | 6.810 | 12.3 | 5.9 | 320 | 0.478 |
| 3: 3 | 4.640 | 5.03 | 4.58 | 233 | 0.910 |
| 3: 4 | 3.160 | 2.43 | 2.46 | 174 | 1.012 |
| 3: 5 | 2.150 | 1.17 | 1.69 | 152 | 1.441 |
| 3: 6 | 1.470 | 0.515 | 1.08 | 129 | 2.093 |
| 3: 7 | 1.000 | 0.251 | 0.65 | 111 | 2.591 |
| 3: 8 | 0.681 | 0.118 | 0.406 | 98.8 | 3.448 |
| 3: 9 | 0.464 | 0.0487 | 0.268 | 93.4 | 5.500 |
| 3: 10 | 0.316 | 0.0198 | 0.174 | 88.3 | 8.794 |
| 3: 11 | 0.215 | 0.00998 | 0.113 | 84.3 | 11.377 |
| 3: 12 | 0.147 | 0.00405 | 0.0746 | 80.9 | 18.407 |
| 3: 13 | 0.100 | 0.00187 | 0.0498 | 79.4 | 26.660 |