



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-282403-00000-0000

Fecha: 2013-12-02 16:06:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 48

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT- FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

22. TITULO **PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE PECTINA**

CLASIFICACION
INTERNACIONAL

SOLICITANTE **CP KELCO APS**

DOMICILIO **LILLE SKENSVED, DINAMARCA**

APODERADO **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

Bogotá, D.C.,

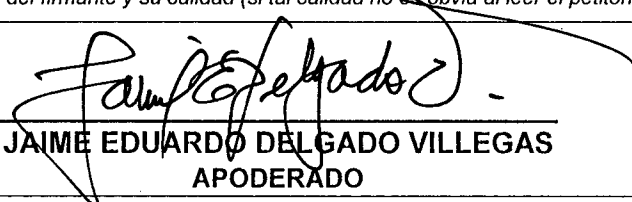


No. 13-282403- -00000-0000

Fecha: 2013-12-02 16:06:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 48

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
	Solicitud Internacional No.	PCT/EP2012/055425	Fecha 27/03/2012
	Publicación Internacional No.	WO2012/167963 A1	Fecha 13/12/2012
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE PECTINA			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
CP KELCO APS			[1]
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN Ved Banen 16, DK-4623		No. TELÉFONO	
CIUDAD LILLE SKENSVED		CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN DK	
PAÍS DE RESIDENCIA DINAMARCA			
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. JENSEN,		Sorem Vodstrup	DK
2. SØRENSEN,		Susanne Oxenbøll	DK
3. ROLIN,		Claus	DK
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
DINAMARCA		LILLE SKENSVED	Ellevej 11, DK-4623
DINAMARCA		VALLENSBÆK STRAND	Margrethevænget 6, 2-4 DK-2665
DINAMARCA		KOEGE	Oernhoejvej 2, DK-4600
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
DELGADO VILLEGAS		JAIME EDUARDO	C.C. 19.270.955 T.P. 43.308 C.S.J.
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
Avda. Carrera 24 No. 37 - 31 Of. 202		2444096	
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
BOGOTA D.C.		mde@mdelaw.com	
PAÍS		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
COLOMBIA			
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
1. ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		US	13/154,381
			(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
			06/06/2011

11	DECLARACION SOBRE USO DE RECURSOS GENETICOS O BIOLOGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL		
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)			
 JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS APODERADO			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 34		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 20		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☐ Dibujos y/o figuras N° folios: 7		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☒ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE PECTINA

Campo técnico

Las realizaciones de la presente descripción se refieren a procedimientos para extracción de pectinas de alta calidad. En particular, la
5 presente descripción se refiere a procedimientos de baja temperatura para la extracción de pectina de pieles de cítricos que evita la degradación significativa de la pectina durante el procedimiento de extracción.

Antecedentes

La pectina es un polisacárido complejo asociado a las paredes de las
10 células vegetales. Consiste en una estructura de ácido poligalacturónico unida por enlaces alfa 1-4 con residuos de rhamnosa interpuestos y modificado con cadenas laterales de azúcar neutras y componentes que no son azúcar, tales como grupos acetilo, metilo y ácido ferúlico. Las cadenas laterales de azúcar neutras, que incluyen arabinano y arabinogalactano, están unidas a los residuos
15 de rhamnosa en la estructura.

Se ha llevado a cabo una cantidad significativa de investigación sobre las pectinas debido a su importancia como producto alimentario, una fibra de la dieta y componente de las paredes celulares en las plantas superiores y a la cada vez mayor conciencia de una serie de actividades farmacológicas. No
20 obstante, los procedimientos actuales de la extracción de pectinas no producen pectinas de suficiente calidad para todos estos usos.

Los procedimientos convencionales de la extracción de pectina requieren prolongar el calentamiento de los materiales vegetales que contienen pectina a temperaturas por debajo de la ebullición (aproximadamente 65-85 °C)
25 en un medio ácido (pH inferior a 2,2) durante de 1 a 10 horas. No obstante,

estos procedimientos tienen tiempos de residencia altos y elevados requisitos de energía, y pueden proporcionar únicamente un rendimiento moderado ((20-30%) usando un procedimiento de contracorriente (es decir, un procedimiento que usa un número, n , de etapas de extracción con las que la materia prima original pasa a la etapa de extracción nº 1, el agua pura original pasa a la etapa número n y para cualquier etapa nº i , suponiendo $1 < i < n$, el líquido sale de la etapa $i+1$ mientras que los sólidos salen de la etapa $i-1$). Por tanto, dado que las condiciones ácidas son agresivas y dado que una gran parte de la pectina queda expuesta a las condiciones ácidas de forma repetida, la pectina a menudo se degrada durante los procedimientos de extracción convencionales.

Como los expertos en la técnica apreciarán, es deseable extraer una pectina que tenga un grado de polimerización (GP) lo más elevado posible por los costes más bajos posibles. La selección de las condiciones de producción como la proporción sólido/líquido, la acidez, la temperatura etc., afectan a estas consideraciones en conflicto. Por ejemplo, con el fin de conseguir un rendimiento incluso moderadamente alto usando procedimientos convencionales, las condiciones de extracción deben ser agresivas. Además tras la extracción, la separación sólidos-líquido debe ser lo más completa posible porque el líquido retenido por los sólidos tras la separación quedará expuesto a las condiciones de extracción agresivas durante un segundo tiempo (debido al parámetro de extracción a contracorriente. Sin embargo, para que la separación sea lo más completa posible, la viscosidad del líquido debe ser, preferentemente, baja, lo que se consigue separando a temperaturas altas, separando con una baja proporción sólidos/líquido o una combinación de ambos. No obstante, el uso de una temperatura alta en combinación con un

pH bajo es perjudicial para la calidad de la pectina (p. ej., su grado de polimerización). Por el contrario, una proporción sólidos/líquido baja es costosa porque se necesitan eliminar grandes cantidades de agua de la pectina, bien por evaporación o bien por destilación de alcohol. Por tanto, existe la
5 necesidad de un procedimiento rentable para extraer pectinas sin comprometer la calidad de las pectinas extraídas.

Además, también es importante que la pectina final carezca de contaminantes indeseados, incluyendo la presencia de residuos del ácido (y sus sales) que se usó para extraer la pectina. Por tanto, también existe la
10 necesidad en la industria de fabricación de pectina de modos rentables de reducir la presencia residual de los ácidos que se añadieron para la extracción.

En la siguiente descripción se expondrán en parte aspectos adicionales y en parte serán obvios a partir de la descripción siguiente o se pueden aprender mediante la práctica de los aspectos que se describen más adelante.
15 Las ventajas descritas más adelante se realizarán y conseguirán por medio de los elementos y combinaciones destacadas particularmente en las reivindicaciones adjuntas. Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada siguiente son ejemplos y explicaciones únicamente y no son restrictivas.

20 **Breve descripción de las figuras**

La FIG. 1 es una ilustración esquemática de un sistema para extraer pectina de acuerdo con una realización concreta.

La Fig. 2 es una ilustración esquemática de un sistema convencional para extraer pectina.

25 La FIG. 3 es un gráfico que ilustra el contenido en calcio de la pectina en

función de la dosis de ácido oxálico.

La FIG. 4 es un gráfico que ilustra el efecto del pH sobre el rendimiento de la extracción de pectina.

La FIG. 5 es un gráfico que ilustra la viscosidad intrínseca de la pectina extraída en función del pH.

La FIG. 6 es un gráfico que ilustra la dosis de ácido oxálico y el rendimiento de la pectina en el porcentaje de la piel.

La FIG. 7 es un gráfico que ilustra el producto de (rendimiento en pectina por la viscosidad intrínseca de la pectina) en función de la dosis de ácido oxálico.

Descripción detallada

Las realizaciones de la presente invención se refiere a procedimientos para la extracción de pectinas de alta calidad a partir de materiales vegetales que contienen pectina usando ácido oxálico para la extracción del material que contiene pectina. Generalmente se describe un procedimiento para extraer pectina que tiene un grado elevado de polimerización en una extracción de una sola etapa, que comprende preparar una suspensión acuosa de un material vegetal que contiene pectina, añadir ácido oxálico y/u oxalato hidrosoluble a la suspensión acuosa en una cantidad suficiente para proporcionar una mezcla que tenga un pH de entre 3,0 y 3,6 y una molaridad total del oxalato superior a una molaridad total de calcio (II), calentar la mezcla hasta una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 durante un tiempo suficiente para extraer pectina del material vegetal que contiene pectina y separar la pectina extraída de la mezcla. Deseablemente, La pectina extraída se caracteriza porque tiene un grado de esterificación (GE) de al menos 73 y un grado de

polimerización alto, estando el grado de polimerización caracterizado por una viscosidad intrínseca superior a aproximadamente 6 dl/g.

Los materiales vegetales que contienen pectina son bien conocidos en la técnica e incluyen materiales frescos y procesados así como residuos vegetales. Deseablemente, el material vegetal que contiene pectina es una fruta, ejemplos no limitantes de las cuales incluyen frutas con hueso tales como melocotones, pomáceas tales como manzanas y cítricos tales como limas, limones, naranjas y pomelos. El material se puede preparar para la extracción usando cualquier medio adecuado y cualquier porción adecuada del material vegetal que contiene pectina, que contiene, por ejemplo, extracción de zumo, pelado, triturado, molturación o picado del material vegetal que contiene pectina o porciones del mismo. En realizaciones concretas, el material vegetal que contiene pectina es la piel de la fruta. La piel de la fruta de un cítrico, como se usa en el presente documento, quiere decir el exocarpo, el mesocarpo y los sacos de zumo (sacos de pulpa) que quedan después de extraer el zumo de la fruta. En realizaciones alternativas el material vegetal que contiene pectina es una o más porciones de la piel de la fruta (p. ej., el mesocarpo, las fracciones del mesocarpo, los sacos de zumo o combinaciones de los mismos.

En realizaciones, el ácido oxálico y/o el oxalato hidrosoluble se añaden a una solución acuosa de los materiales vegetales que contienen pectina. Los materiales vegetales que contienen pectina generalmente están presentes en una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 5% en peso de la mezcla. El ácido oxálico y/o el oxalato hidrosoluble están presentes en una cantidad de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 g por kg de material seco del material vegetal que contiene pectina. Deseablemente, la mezcla

tiene un pH entre 3,0 y 3,6, un pH entre 3.1 y 3.4, o un pH entre 3.2 y 3.3. La mezcla también tiene, Deseablemente, una molaridad total del oxalato superior a una molaridad total del calcio (II). Los expertos en la técnica apreciarán que junto con el ácido oxálico y/o el oxalato hidrosoluble, el pH de la mezcla se puede modificar con la adición de cantidades minoritarias de bases adecuadas (p.ej, NaOH) o ácidos (p.ej., ácido nítrico) usando procedimientos conocidos en la técnica.

A continuación se extrae la pectina de los materiales vegetales que contienen pectina mediante calentamiento, la mezcla a una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 °C durante un tiempo suficiente para extraer la pectina. Durante la extracción de la pectina, la mezcla, deseablemente, se agita suavemente y/o se agita usando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. En realizaciones concretas, la mezcla se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 60 a aproximadamente 80°C o a una temperatura de aproximadamente 70 a aproximadamente 80 °C. Aunque el rendimiento suele aumentar con el tiempo de extracción, preferentemente el tiempo se minimiza para reducir cualquier pérdida en el grado de polimerización en la pectina que se está extrayendo. De acuerdo con esto, en realizaciones concretas, un tiempo suficiente para extraer la pectina es de aproximadamente 0,5 horas a aproximadamente 5 horas, de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas o de aproximadamente 1,5 horas a aproximadamente 2,5 horas.

Tras la extracción de la pectina de los materiales vegetales que contienen pectina, los sólidos insolubles (es decir, el residuo del material vegetal que contiene pectina) se puede eliminar de la mezcla de la pectina

extraída usando cualquier medio adecuado, por ejemplo mediante una o más etapas de filtración (p. ej., filtración gruesa y/o filtración fina). La pectina extraída puede precipitarse después de la mezcla mediante, por ejemplo, vertido del extracto en una cantidad eficaz de alcohol. Alcoholes útiles incluyen, entre otros, cualquier alcohol que sea compatible con aplicaciones alimentarias y que precipite de forma eficaz las pectinas y disuelva los materiales soluble en alcohol. En realizaciones concretas, los alcoholes son alcohol isopropílico, propanol, etanol o metanol. Tras la precipitación, la pectina extraída se puede separar de la solución y lavar con alcohol para eliminar todas las impurezas solubles en alcohol posibles. Después, la pectina se puede desecar y procesar en un polvo o modificar adicionalmente (p. ej., desesterificar y/o amidar) usando procedimientos conocidos en la técnica.

En otras realizaciones concretas, los residuos se pueden eliminar de la pectina extraída antes o después de su separación de la mezcla alcohol-agua. Dichos residuos pueden, incluido, por ejemplo, cantidades pequeñas de los residuos de ácido oxálico y de oxalato que se usaron para la extracción. Aunque generalmente se acepta una presencia moderada de ácidos convencionales (p. ej., ácido nítrico) usados en los procedimientos de extracción, es probable que los residuos de ácido oxálico solo se permitan en cantidades bajas debido a la falta de uso regulador previo y de evaluación en la producción de pectina comercial. Por tanto, es deseable eliminar los residuos de ácido oxálico y de oxalato cálcico de la pectina extraída. De acuerdo con esto, en realizaciones concretas, el procedimiento comprende además exponer la solución de pectina extraída a una resina de intercambio catiónico antes de separar la pectina extraída de la solución, reduciendo de este modo

significativamente los residuos de oxalato y de calcio en la pectina extraída final. Ejemplos no limitantes de las resinas de intercambio catiónico adecuadas incluyen Lewatit® S1668 y Lewatit® S1468 (Lanxess Deutschland GmbH, Leverkusen, Alemania), Purolite® C100E (Purolite International Ltd., Llantrisant, Reino Unido), y Amberlite® SR1L Na (Rohm and Haas, Philadelphia, Pennsylvania). La solución de la pectina extraída puede estar a cualquier temperatura adecuada y se puede calentar o enfriar según sea necesario. Por ejemplo, en realizaciones la solución de la pectina extraída está a una temperatura de aproximadamente 55 a aproximadamente 70°C.

Las pectinas obtenidas usando los procedimientos proporcionados en el presente documento tienen un grado de esterificación (GE) y un mayor grado de polimerización (GP) mientras que se extrae en un rendimiento más alto que en los procedimientos convencionales. Deseablemente, la pectina extraída tiene grado mayor de esterificación superior o igual a 75 y un grado de polimerización que se caracteriza por una viscosidad intrínseca de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 9 dl/g. En realizaciones concretas, la pectina extraída tiene grado mayor de esterificación de al menos 76, al menos 77, o al menos 78, y un grado de polimerización que se caracteriza por una viscosidad intrínseca de al menos 7,0 dl/g, al menos 7,5 dl/g, al menos 7,8 dl/g, o al menos 8,0 dl/g.

No obstante, los expertos en la técnica apreciarán que las propiedades de la pectina dependen de la especie de material vegetal, la madurez del material vegetal, el retraso antes del procesamiento del material vegetal. Por ejemplo, en una realización la pectina extraída de una piel de limón de alta calidad tiene un grado de esterificación de aproximadamente 75-78 y una

viscosidad intrínseca de aproximadamente 9 dl/g (en comparación con un grado de esterificación de 74-76 y una viscosidad intrínseca de aproximadamente 7,5 dl/g cuando se extrae usando procedimientos convencionales). No obstante, en otra realización, la pectina extraída de un material vegetal de baja calidad tiene un grado de esterificación superior a 73 y una viscosidad intrínseca de aproximadamente 6,5 dl/g.

Los procedimientos proporcionados en el presente documento también proporcionan, deseablemente, un rendimiento más alto por piel que los procedimientos convencionales de extracción de la pectina. En realizaciones concretas, el rendimiento por piel es superior a aproximadamente 23, superior a aproximadamente 25, o superior a aproximadamente 27. Los expertos en la técnica apreciarán, no obstante, que el rendimiento previsto depende de la calidad de la materia prima y de las variaciones naturales de la materia prima.

El rendimiento por piel puede aproximarse con la fórmula siguiente:

$$Y_P \% = 0,1 \cdot y_S \cdot M/W_P$$

en la que Y_P es el rendimiento por piel en %, y_S el rendimiento de la solución (extracto líquido) en g/kg, M es la masa total de la mezcla de extracción justo antes de la filtración y W_P es el peso total de la piel que se usó para la mezcla de extracción. Los expertos en la técnica apreciarán que este cálculo del rendimiento por piel solo es una aproximación porque ignora que una parte minoritaria de la masa total de la mezcla de extracción no se disuelve y, por tanto, representa un volumen dentro del cual la pectina disuelta no se distribuye,

En realizaciones concretas, el valor de los procedimientos proporcionados en el presente documento se caracteriza por el producto del

- rendimiento por piel y la viscosidad intrínseca. Deseablemente, el producto del rendimiento por piel y la viscosidad intrínseca de las pectinas obtenidas mediante los procedimientos proporcionados en el presente documento es superior al del producto del rendimiento por piel y la viscosidad intrínseca de las pectinas obtenidas mediante procedimientos convencionales. Por ejemplo, en realizaciones concretas, el producto del rendimiento por piel y la viscosidad intrínseca de la pectina es superior a aproximadamente 160, superior a aproximadamente 165, superior a aproximadamente 175, o superior a aproximadamente 185.
- 10 El procedimiento anterior mejora sobre los procedimientos de extracción de la pectina d la técnica anterior proporcionando un procedimiento que (1) consigue una viscosidad baja durante la filtración al tiempo que minimiza la pérdida de pectina del grado de polimerización; (2) elimina el Ca^{++} al tiempo que reduce la necesidad de regenerar la resina de intercambio iónico; (3)
- 15 aumenta el rendimiento de la pectina en comparación con la cantidad de materia prima gastada al tiempo que minimiza el grado de polimerización; (4) reduce la cantidad de agua que necesita para su eliminación de la pectina extraída; y (5) reduce los residuos en el producto final del ácido añadido para la extracción.
- 20 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que el procedimiento proporcionado en el presente documento consigue estos resultados deseables en parte mediante un equilibrio específico de la selección del medio de extracción (ácido oxálico), el pH y la temperatura. Además, se cree que la precipitación de una porción mayoritaria de los iones de Ca^{++} como oxalato
- 25 cálcico reduce la tendencia de la pectina disuelta a hacerse más viscosa en

presencia de iones de Ca^{++} , reduciendo de este modo la viscosidad de la mezcla durante la filtración y reduciendo el ácido oxálico residual en el producto final. La combinación de buen rendimiento y de viscosidad baja hace también posible operar con una concentración de pectina relativamente alta en el líquido filtrado, reduciendo de este modo la cantidad de agua que debe retirarse de la pectina. Por último, la presencia de ácido oxálico residual en la pectina final se reduce adicionalmente exponiendo el extracto líquido de la pectina a una resina de intercambio iónico antes de precipitar la pectina en la solución.

Realizaciones de la presente descripción se ilustran adicionalmente mediante los ejemplos siguientes, que no deben interpretarse de ningún modo como que imparten limitaciones del alcance de la misma. Por el contrario, debe entenderse claramente que se debe recurrir a otras varias realizaciones, modificaciones y equivalentes de los mismos que, después de leer la descripción en ellos, pueden sugerirse a los expertos en la técnica sin desviarse del espíritu de la presente invención y/o del alcance de las reivindicaciones adjuntas. A menos que se especifique lo contrario, las cantidades a las que se hace referencia en porcentajes (%) son en peso (% en peso).

EJEMPLOS

Los protocolos siguientes se usaron para analizar el grado de esterificación (GE), la viscosidad intrínseca (VI), la fuerza, el contenido en calcio residual y el contenido en oxalato residual en los Ejemplos siguientes.

Protocolo 1: Determinación del grado de esterificación

El grado de esterificación se midió usando el procedimiento expuesto en la Monografía 4 de la FAO JECFA (2007). A 2,00 g de pectina se añadieron

100 ml del alcohol ácido (100 ml de IPA al 60% + 5 ml de HCL fumante al 37%) en agitación con un agitador magnético durante 10 minutos. La mezcla se pasó a través de un embudo de Büchner con un papel de filtro y el batidor se aclaró con 90 l de alcohol ácido y también se pasó a través del embudo de Büchner con un papel de filtro. Después, el filtrado se lavó primero con 1.000 ml de IPA al 60% y, después, con aproximadamente 30 ml de IPA al 100%. Después, la muestra se secó durante aproximadamente 15 minutos en el embudo de Büchner con succión de vacío.

Las muestras de pectina que pesaban aproximadamente 0,40 g se midieron para la determinación por duplicado (la desviación entre determinaciones duplicadas no debe superar el 1,5% absoluto, en caso contrario se repitió la prueba). Las muestras de pectina se humedecieron primero con aproximadamente 2 ml de IPA al 100%. Después, a las muestras humedecidas se añadieron aproximadamente 100 ml de agua desionizada en agitación con una barra magnética. Después, las muestras se evaluaron mediante titulación, bien por medio de un indicador o usando un pHmetro/autobureta.

Titulación usando un indicador. A la muestra se añadieron 5 gotas del indicador fenolftaleína y se tituló con NaOH 0,1M hasta observar un cambio de color (regístrese como el título V1). Se añadieron 20,0 ml de NaOH 0,5M en agitación y se cubrieron con aluminio durante exactamente 15 minutos. Se añadieron 20,0 ml de HCl 0,5M en agitación hasta que desapareció el color. Se añadieron 3 gotas del indicador fenolftaleína y se tituló con NaOH 0,1M hasta observar un cambio de color (regístrese como el título V2). Con el fin de compensar las posibles inexactitudes de equilibrar las dos porciones de 20 ml

de NaOH 0,5M y HCl 0,5M, respectivamente, se realizó una denominada "medición enmascarada" (es decir, 100 ml de agua desionizada se trató del mismo modo que la solución de la muestra, incluidas las titulaciones). El último resultado de titulación se registró como título B1. El grado de esterificación se

5 caracterizó después mediante los cálculos siguientes.

$$V_t = V_1 + (V_2 - B_1)$$

$$\% \text{ GE (grado de esterificación)} = [(V_2 - B_1)/V_t] * 100$$

10 **Protocolo 2: Determinación de la viscosidad intrínseca**

Las muestras se prepararon usando un módulo disolvente/muestra Viscotek GPC max VE 2001 GPC o automuestreador AS 3500 a menos que se supiera que las muestras contenían material no soluble (en cuyo caso, las muestras se prepararon manualmente). El peso molecular, la viscosidad

15 intrínseca y la distribución del peso molecular de la pectina en las muestras se determinó después usando cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las moléculas se separaron de acuerdo con su tamaño mediante cromatografía de permeación en gel, pasando el efluente de la columna cromatográfica tres detectores (RI, RALLS y un detector de la viscosidad). El software Viscotek

20 convirtió las señales del detecto en peso molecular y viscosidad intrínseca y calculó los promedios ponderados para toda la población.

Equipo: Viscotek TDA 302 triple detector o TDA 305; Viscotek GPC max VE 2001 GPC módulo de disolvente/muestra o automuestreador AS 3500; módulo para preparación de muestras; balanza Metler Toledo y Microlab. 500

25 dispensador; módulo de calentamiento/agitación Pierce Reacti-Therm III,

Columnas: BioBasis SEC60 (300 x 7,8), SEC120 (300 x 7,8), SEC300 (300 x 7,8) SEC1000 (300 x 7,8), todas de Thermo, o Shodex guard SB400 G-8B, SB401-8F, SB402,5-8F, SB403-8F, SB404-8F; o en FIPA fijadas con CPkelco Special (SuperDex Peptid de GE Health Care) o BioBasis SEC60 (150 x 7,8) de Thermo; detector RALLS (detector de la dispersión de la luz láser en ángulo recto); detector LALLS (detector de la dispersión de la luz láser en ángulo bajo); detector RI (índice de refracción); Detector viscosímetro; software informático: OmniSEC.

Preparación manual de la muestra: Las muestras que se sabía que contenían material no soluble se disolvieron a mano y se centrifugaron (10.000 g durante 10 minutos) y el sobrenadante se transfirió a un nuevo vial antes de la inyección.

Preparación de la muestra usando el módulo de preparación de muestras, balanza Metler Toledo y Mikrolab. Dispensador 500 y módulo de calentamiento/agitación Pierce Reacti-Therm III: En el software omniSEC se usó el programa SASP para preparar las muestras antes del análisis. La proporción cantidad/capacidad fue aproximadamente 30 mg de polvo a 15 ml de eluyente (2 mg por ml) en viales de 20 ml. Después de preparar la muestra, los viales se introdujeron durante 30 minutos a 70 °C en el módulo de agitación y calentamiento.

Preparación de la muestra usando la balanza y el módulo de calentamiento/agitación usando el automuestreador AS 3500 Aproximadamente 2,0 mg de pectina se pesó en un vial del automuestreador y se introdujo en la gradilla del automuestreador. Usando el molde 4 del automuestreador AS3500 se usaron las siguientes unidades: Ciclos de dilución:

2; Calentador: Temp ENCENDIDO: 70°C; Cargar 20 µl de disolvente S-1 (S-1 = etanol al 96%); Añadir 10 µl a la muestra; Cargar 1.500 µl de disolvente S-2 (S-2 = tampón de Li-acetato 0,3 M); Añadir 1.300 µl a la muestra (solución de 0,1% de pectina –1 mg/ml); Mezclar durante 9,9 minutos; Mezclar durante 9,9 minutos; Esperar durante 10,0 minutos; Activar OVERLAY: SÍ (inicia la siguiente preparación de la muestra antes del final del análisis para pasar la muestra). El tiempo de recorrido en el automuestreador se fijó en 50 minutos y se usaron 100 µl de inyección de bucle completo. Cuando se usó el automuestreador, la muestra se filtró automáticamente con un filtro de 0,5 µm en línea colocado después del bucle del automuestreador.

Protocolo 3: Determinación de la fuerza de la pectina
(procedimiento de YogSimBuf)

Tampón YOG SIM BUF a pH 3,75 (2.000 ml). Se preparó un tampón disolviendo 13,03 g de lactato cálcico ($C_6H_{10}O_6Ca, 5 \cdot H_2O$), 2,79 g de hidrogenofosfato dipotásico (K_2HPO_4), 2,00 g de benzoato sódico, 2,03 g de dihidróxido fosfato potásico (KH_2PO_4), 40,00 g de lactosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$), 300,00 g de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Se pesaron 7,23 g de ácido láctico (90%) y se añadieron a la solución y el batidor se aclaró con agua intercambiada con iones. Por último, se disolvieron 0,43 g de hidróxido sódico (NaOH) en el matraz y la solución se diluyó hasta 2.000 ml con agua desionizada. El pH de la solución tampón se ajustó añadiendo ácido cítrico hasta obtener una lectura del pH de $3,68 \pm 0,02$, que tuvo como resultado un pH de $3,75 \pm 0,05$ en el sistema pectina-tampón final. Esta solución de tampón fue estable hasta la precipitación.

Solución madre de pectina (1,2%) (100 ml). Se preparó una solución

madre de pectina humedeciendo 1,20 g de pectina con 5,00 ml de IPA al 100% en un matraz. En agitación, al matraz se añadieron 95 ml de agua desionizada en ebullición ($>85^{\circ}\text{C}$) t la mezcla se introdujo en un baño de agua/calentador de bloque a 75°C durante .0 minutos en agitación. La solución se enfrió hasta 5 la temperatura ambiente y se añadió agua desionizada para diluir la solución hasta 100,0 g.

La solución tampón, la solución madre de pectina y el agua desionizada se mantuvieron a una temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La solución madre de pectina se diluyó con agua desionizada de acuerdo con la tabla siguiente,

Conc, de pectina en el sistema final, % %	Agua desionizada (g)	Solución madre de pectina (1,2%) (g)
0	15,0	0
0,02	14,5	0,5
0,04	14,0	1,0
0,06	13,5	1,5
0,08	13,0	2,0
0,10	12,5	2,5
0,12	12,0	3,0
0,14	11,5	3,5
0,16	11,0	4,0
0,18	10,5	4,5
0,20	10,0	5,0
0,22	9,5	5,5

0,24	9,0	6,0
0,26	8,5	6,5
0,28	8,0	7,0
0,30	7,5	7,5
0,32	7,0	8,0
0,34	6,5	8,5
0,36	6,0	9,0
0,38	5,5	9,5
0,40	5,0	10,0
0,42	4,5	10,5
0,44	4,0	11,0
0,46	3,5	11,5
0,48	3,0	12,0
0,50	2,5	12,5
0,52	2,0	13,0
0,54	1,5	13,5
0,56	1,0	14,0
0,58	0,5	14,5
0,60	0	15,0

A la solución de pectina diluida se añadieron 15 ml del tampón en agitación a una velocidad suficiente para proporcionar un vórtex de aproximadamente 1 cm durante un total de 25 segundos. Después de 1 minuto, la solución se analizó usando un Brookfield LVT con un adaptador a 6 rpm (factor 1). La solución pectina-tampón también se evaluó visualmente para

caracterizar su aspecto (es decir, la presencia o ausencia de grumos de gel, aspecto no homogéneo etc.). El procedimiento se repite a varias diluciones hasta que se identifican los siguientes puntos de datos. (1) una concentración con una viscosidad entre 18-25 mPa·s, y (2) una concentración entre 25 y 35 mPa·s. La lectura era válida si el pH de las soluciones entre 25 y 35 mPa·s estaba entre 3,70 y 3,80.

El resultado bruto después de seguir el procedimiento anterior consistió en dos puntos de datos (c_1, η_1) y (c_2, η_2) con los que $18 \text{ mPa}\cdot\text{s} \leq \eta_1 \leq 25 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ y $25 \text{ mPa}\cdot\text{s} \leq \eta_2 \leq 35 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. El resultado del procedimiento, c_t , se calculó del siguiente modo, siempre que las viscosidades se introdujeran en la unidad mPa·s

$$c_t = c_1 + (c_2 - c_1) \cdot (\ln(25 / \eta_1)) / (\ln(\eta_2 / \eta_1))$$

Protocolo 4: Determinación del contenido en calcio residual

Se usaron aproximadamente 0,5 g de pectina extraída para evaluar la presencia de calcio residual. Las muestras se digirieron con ácido nítrico (65%) y peróxido de hidrógeno (30) en un digestor de horno microondas como se prescribe en el manual. Después de la digestión, se dejaron enfriar los vasos de reacción en una campana de humos. Después, las muestras se transfirieron a un matraz de medición de 50 ml. Al medir el calcio residual, fue necesario añadir cloruro de cesio para evitar interferencias (1 ml de solución de CsCl al 2,5% por 10 ml de solución para preparar la solución de aproximadamente 2.000 ppm en Cs). La concentración del ácido (HNO_3) en las soluciones de medición fue de 3% a 10%. La intensidad de la emisión de las muestras se midió después. Si no estaban dentro de la intensidad de la

emisión estándar, las muestras se diluyeron adecuadamente.

Protocolo 5: Determinación del contenido en oxalato residual

Se usaron aproximadamente 0,2 g de pectina extraída para evaluar la presencia de oxalato residual. A la pectina extraída se añadió 2-propanol (1 ml) y la mezcla se agitó hasta que se humedeció la pectina. Después se añadió agua desionizada Milli-Q (40 ml en agitación. Las muestras se calentaron hasta 90 °C en un frasco cerrado durante entre 30 y 60 minutos y después se enfriaron hasta la temperatura ambiente. Después, las muestras se evaluaron usando cromatografía HPLC (Aparato: Waters TM600 con detector del índice de refracción y detector de la conductividad; Flujo: 1,4 ml/minuto; Temperatura: 40°C; Inyección: 100 o 200 ml de bucle completo; Eluyente: NaHCO_3 0,85 mM + Na_2CO_3 0,9 mM en agua desionizada).

La respuesta cuantitativa del detector de conductividad al paso del ácido oxálico por el detector se cuantificó como el área (la "respuesta del detector integrada") en un diagrama (eje x= tiempo, eje y= respuesta del detector). La respuesta del detector integrada se delimitó por una línea basal recta antes y después del pico de acuerdo con las prácticas habituales y consensos en la materia. Las respuestas del detector integradas de las muestras desconocidas se compararon después con una curva de calibración lineal de las respuestas del detector integradas de muestras conocidas de ácido oxálico dihidrato en agua desionizada (eje x= concentración, eje y= respuesta del detector integrada) y la correspondiente concentración de ácido oxálico se dedujo de la curva de calibración lineal.

Ejemplo 1

Se extrajo pectina de limón de una piel de limón desecada de la

provincia de Tucumán de Argentina. La fruta se recolectó en 2009, tras lo cual la fruta se abrió y se usó para la producción de zumo de cítrico y de aceite de piel de cítrico. Los restos de la fruta se trituraron y se lavaron varias veces en agua para extraer una gran parte de los materiales solubles naturales, como sacarosa, y después se secaron. Estas operaciones rutinarias fueron realizadas por el proveedor de la piel.

La piel de limón se usó después en un procedimiento de extracción de ejemplo (ilustrado en la figura 1) para extraer pectina de la piel de limón. La piel de limón desecada (1.000 g) se suspendió en una mezcla de 20 l de agua, 30,0 g de ácido oxálico dihidrato y 2,90 g de NaOH. Esta mezcla se incubó con agitación muy suave durante 60 minutos a 72,5°C ("Mezcla A"). Después, la mezcla A se diluyó con una suspensión de 400 g de celulosa de madera (un auxiliar de la filtración insoluble) en 20 l de agua caliente y se continuó incubando y en agitación suave durante 60 minutos a 75,0 °C ("Mezcla B"). Después la Mezcla B se vertió en un embudo de Büchner a través de un paño de filtro con el fin de separar la solución ("Solución C") de los materiales que no se disolvieron (que junto con la solución que no se pudo separar se denomina "Mezcla D").

Después, la solución C se filtró adicionalmente a través de un lecho de Filtercel 450 (un auxiliar de la filtración para eliminar la neblina) y se agitó con resina de intercambio iónico de Lewatit. La solución obtenida después de drenar la resina ("Solución E") se vertió en aproximadamente tres partes (es decir, tres veces su propio volumen) de 80% de 2-propanol. El precipitado se prensó para eliminar todo el alcohol gastado como sea posible y después se lavó en una mezcla de 60% de 2-propanol y 40% de agua antes de volverlo a

prensar. El volumen de la mezcla usado para lavar el precipitado fue aproximadamente el mismo que el volumen de la Solución E. Tras los lavados, el precipitado se secó, se molió y se tamizó a través de un tamiz de polvo de tamaño de poro de 250 μ .

- 5 El pH de una alícuota de la Mezcla B fue 3,52 después de enfriar hasta 25 °C. La cantidad de pectina desecada que se pudo aislar por kg de Solución E fue 5,71 g. En el presente ejemplo, la masa total de la mezcla de extracción justo antes de la filtración, el peso de la piel usada para la mezcla de extracción y el rendimiento por piel se calcularon del siguiente modo:

10
$$M = 1+20+0,03+0,0029+0,400+20 \text{ kg} = 41,4 \text{ kg}.$$

$$W_p = 1 \text{ kg}.$$

$$Y_p \% = 0,1 \cdot 5,71 \cdot 41,4 / 1 = 23,6$$

- La pectina también se analizó en el laboratorio para determinar el grado de esterificación (GE) y la viscosidad intrínseca (VI) (Protocolos 1 y 2 descritos en lo que antecede, respectivamente). La pectina tenía un GE = 76,4 y VI = 7,83 dl/g. El producto del rendimiento por la viscosidad intrínseca, que proporciona una métrica más relevante para el valor, fue 186.

- Además, la fuerza de la pectina se midió usando el procedimiento YogSimBuf que expresa la concentración de pectina a la que la solución alcanza una viscosidad de 25 mPa·s. (Protocolo 3 descrito anteriormente). El YogSimBuf (YSB) para la pectina extraída de la piel de limón fue 2,51 g/l.

Ejemplo 2 (Comparativo)

- La misma piel de limón descrita en el ejemplo 1 se usó en un procedimiento de extracción de pectina convencional (ilustrado en la Figura 2).
- 25 La piel de limón desecada (1.000 g) se suspendió en una mezcla de 30l de

agua, y 15 ml de 62% de ácido nítrico, y se incubó con agitación muy suave durante 30 minutos a 72,5°C ("Mezcla F"). A la Mezcla F se añadieron 50 ml adicionales de 62% de ácido nítrico y la incubación a 72,5°C se continuó durante 120 minutos ("Mezcla G"). La Mezcla G se diluyó con 10 l de agua
5 caliente más 400 g de celulosa de madera y se incubó durante 30 minutos a 75 °C ("Mezcla H"). Después la Mezcla H se vertió en un embudo de Büchner a través de un paño de filtro con el fin de separar la solución ("Solución I") de los materiales que no se disolvieron (que junto con la solución que *no* se pudo extraer por prensado de los materiales se denomina "Mezcla J").

10 Después, la Solución I se filtró adicionalmente a través de un lecho de Filtercel 450 (un auxiliar de la filtración para eliminar la neblina) y se agitó con resina de intercambio iónico de Lewatit. La solución obtenida después de drenar la resina ("Solución K") se vertió en aproximadamente tres partes (es decir, tres veces su propio volumen) de 80% de 2-propanol. El precipitado se
15 prensó para eliminar todo el alcohol gastado como sea posible y después se lavó en una mezcla de 60% de 2-propanol y 40% de agua antes de volverlo a prensar. El volumen de la mezcla usado para lavar fue aproximadamente el mismo que el volumen de la Solución K. Tras los lavados, el precipitado se secó, se molió y se tamizó a través de un tamiz de polvo de tamaño de poro de
20 250 µ.

El pH de una alícuota de la Mezcla H fue 2,05 después de enfriar hasta 25 °C. La cantidad de pectina desecada que se pudo aislar por kg de Solución K fue 5,95 g. Usando los mismos símbolos y fórmula que en el Ejemplo 1, la masa total de la mezcla de extracción justo antes de la filtración y el
25 rendimiento por piel se calcularon del siguiente modo:

5

$$M = 30+1+0,015+0,050+0,4+10 = 41,5$$

$$Y_P = 24,7.$$

Tanto el GE como la VI se midieron usando los mismos protocolos descritos con anterioridad. La pectina tenía un GE = 74,6 y una VI = 6,59 dl/g.

- 5 El producto del rendimiento por la viscosidad intrínseca, fue 163 (solo el 88% del Ejemplo 1). El YogSimBuf se calculó como 3,24 g/l, lo que sugiere que la fuerza de la pectina extraída usando el procedimiento convencional era del solo el 77% de la del ejemplo 1 (teniendo en cuenta que "bajo" significa "fuerte").

10 **Ejemplo 3**

- Se usó el mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 2 para evaluar el efecto de la dosis de ácido oxálico, el pH y la temperatura durante la extracción de la piel de limón. Se realizó una serie de 24 experimentos similares en los que la dosis de ácido oxálico dihidrato se modificó a cuatro niveles (15, 20, 25, 15 y 30 g por kg de piel desecada) y el pH previsto se modificó a tres niveles (2,70, 3,00 y 3,30) añadiendo ácido nítrico o hidróxido sódico junto con el ácido oxálico. Los valores de pH que realmente se consiguieron fueron ligeramente diferentes de los valores previstos (véase más adelante). Además, la temperatura se modificó a dos niveles (70 y 80 °C).

- 20 En todos los experimentos, 1.000 g de la piel desecada obtenida de la misma fuente que los Ejemplos 1 y 2 se suspendieron con las cantidades especificadas de otros ingredientes en 20 l de agua durante 60 minutos a la temperatura estipulada. La mezcla se diluyó con 20 l más de agua y se incubó durante 60 minutos a la misma temperatura, y, por último, se filtró y analizó 25 como se describe en el Ejemplo 1, excepto que el extracto no se puso en

contacto con una resina de intercambio iónico (es decir, que la pectina producida en el Ejemplo 3 contenía más calcio residual que los a la de los Ejemplos 1 y 2). El calcio total, mg/g, en la pectina se determinó usando el protocolo 4, descrito en lo que antecede.

5 Las condiciones experimentales y los resultados se resumen a continuación:

Número de experimento	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ácido oxálico (g)	30	30	30	15	15	15	20	20	20	25	25	25
Ácido nítrico (ml, 62%)	6	0	0	16	10	4	12	6	1	9	3	0
NaOH 1N (nl)	0	0	73	0	0	0	0	0	0	0	0	24
Temperatura (°C).	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
pH de la mezcla ext. a 25 °C.	2.7	2.9	3.1	2.6	3.0	3.2	2.6	2.9	3.3	2.7	2.9	3.1
	0	6	9	6	1	7	7	5	7	5	7	7
Rendimiento de pectina/piel %	20.	20.	20.	15.	14.	13.	17.	16.	17.	19.	18.	19.
	00	12	99	76	36	04	76	96	17	37	88	40
GE	77.	77.	77.	78.	78.	79.	78.	78.	78.	78.	78.	78.
	90	50	50	50	70	30	20	60	70	20	30	20
VI (dl/g)	8.0	8.1	7.8	7.4	8.1	8.5	7.8	8.2	8.0	7.6	7.9	7.9
	2.6	2.5	2.4	3.3	3.4	3.2	3.1	3.0	2.7	2.8	3.0	2.8
YogSimBuf (g/l)	5	4	5	9	1	6	2	5	7	5	7	8
Calcio (mg/g)	3.9	3.3	2.7	8.3	7.3	6.1	6.2	5.8	5.4	3.8	3.1	3.1
Número de	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24

experimento												
ácido oxálico (g)	30	30	30	15	15	15	20	20	20	25	25	25
Ácido nítrico (ml, 62%)	6	0	0	16	10	4	12	6	1.2	9	3	0
NaOH 1N (nl)	0	0	72	0	0	0	0	0	0	0	0	24
Temperatura (°C).	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
pH de la mezcla ext. a 25 °C.	2.7 3	2.9 7	3.1 8	2.6 6	2.8 9	3.2 9	2.7 2	2.9 5	3.2 3	2.8 7	3.1 1	3.2 7
Rendimiento de pectina/piel %	23. 76	26. 72	26. 35	21. 36	18. 72	18. 88	22. 65	21. 54	21. 83	23. 66	25. 04	25. 24
GE	77. 50	77. 10	76. 60	78. 20	78. 70	78. 80	77. 60	77. 80	78. 10	77. 50	77. 40	77. 40
VI (dl/g)	6.7	6.4	6.9	6.3	6.7	7.0	6.6	6.6	6.7	6.3	6.9	6.9
YogSimBuf (g/l)	3.5 2	3.4 9	3.0 7	4.5 3	4.3 0	4.4 2	3.9 6	4.0 3	3.7 3	3.5 0	3.3 6	3.3 2
Calcio (mg/g)	2.4	2.7	2.3	5.0	4.9	4.7	5.6	3.9	4.2	3.5	2.7	2.3

Estos resultados se pueden entender mejor en forma gráfica, como se expone en las Figuras 3-7 y como se describe más adelante.

La Figura 3 muestra el contenido en calcio de las muestras de pectina experimentales en función de la dosis de ácido oxálico en g de (COOH)₂ · 2 H₂O, M = 126,1 por kg de piel. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que porque la piel contenía 8,0 mg de Ca⁺⁺ por g de piel, el equilibrio estequiométrico entre ácido oxalato y calcio debe estar en la dosis de 25,2 g de ácido oxálico dihidrato. Lo que se observó fue que cuanto más ácido

oxálico se usó para la extracción, menos calcio residual había en las correspondientes muestras de pectina hasta el equilibrio después de superar un equilibrio estequiométrico. En particular, se encontró menos calcio en la pectina extraída a 80 °C, probablemente porque el rendimiento en pectina fue mayor a esta temperatura en comparación con 70 °C y el calcio residual se mezcló con una cantidad relativa mayor de pectina a la temperatura más alta.

La Figura 4 muestra el efecto del pH sobre el rendimiento de extracción en curvas individual para las ocho posibles combinaciones de las cuatro dosis de ácido oxálico y dos temperaturas. Como se puede observar en la ilustración gráfica, el rendimiento no dependía mucho del pH de extracción dentro de los intervalos de pH y la dosis de ácido oxálico analizada en esta serie de experimentos. No obstante, se produjo una tendencia pronunciada para que el rendimiento sea superior a 80 °C que a 70 °C. El rendimiento también tendía a ser mayor con las elevadas dosis de ácido oxálico en comparación con las menores. Por ejemplo, el rendimiento para la extracción con 30 mg/g de ácido oxálico a 70°C fue superior al rendimiento para 15 mg/g a 80°C.

La Figura 5 muestra la viscosidad intrínseca como función del pH con curvas individuales para cada una de las ocho combinaciones de las cuatro dosis y dos temperaturas. Como se puede ver en la ilustración gráfica, los resultados de viscosidad intrínseca más alta se obtuvieron a la temperatura de extracción más baja. Además, de media, las muestras extraídas al pH más bajo tenían una viscosidad intrínseca menor que las extraídas al pH más alto. No obstante, cuando este dato se interpreta sin considerar los datos de otras investigaciones, la relación entre el pH y la viscosidad intrínseca es incierta y se puede interpretar de más de un modo. Sin desear quedar ligada a teoría

alguna, se cree que la viscosidad intrínseca se puede ver influida por un retardo térmico gradual de la pectina disuelta así como las posibles diferencias entre la pectina que se libera voluntariamente y la pectina que solo se libera en las extracciones con un rendimiento alto, respectivamente.

- 5 La Figura 6 muestra como parámetro independiente la dosis de ácido oxálico como parámetro dependiente el rendimiento de la pectina en el porcentaje de la piel. El rendimiento más alto se obtuvo a la dosis de ácido oxálico más alta. No obstante, los datos de la Figura 4 parecen sugerir que el rendimiento es más un efecto del medio de extracción (es decir, ácido oxálico)
- 10 más que un efecto de la acidez (pH).

La Figura 7 muestra el producto del rendimiento por la viscosidad intrínseca en función de la dosis de ácido oxálico. El valor del rendimiento aumentó con la dosis de ácido oxálico y se hizo menos dependiente de la temperatura de extracción.

15 Ejemplo 4

- Se realizaron otros experimentos para evaluar la reducción del oxalato en la pectina final poniendo en contacto el extracto acuoso con la resina de intercambio catiónico. El mismo procedimiento se usó como se describe en el Ejemplo 1, a excepción de que la Solución C filtrada por Filtercel se dividió en
- 20 dos porciones aproximadamente iguales, tratándose una porción con una resina de intercambio iónico de Lewaitit como se describe en el Ejemplo 1 y una porción en la que se omitió el tratamiento con Lewaitit. Esas dos soluciones se trataron después como se describe en la Solución E en el Ejemplos 1. El contenido en calcio y el contenido en oxalato de la pectina final
- 25 se analizaron después usando los protocolos 4 y 5, respectivamente, cada uno

descrito anteriormente.

	Contenido en oxalato residual		Contenido en calcio residual	
	Con intercambio iónico (mg de oxalato/ g de pectina)	Sin intercambio iónico (mg de oxalato/ g de pectina)	Con intercambio iónico (mg de calcio/ g de pectina)	Sin intercambio iónico (mg de calcio/ g de pectina)
Experimento A	Por debajo del límite de detección	2.29	0.17	2.08
Experimento B	Por debajo del límite de detección	2.17	0.09	1.71
Media	Por debajo del límite de detección	2.23	0.13	1.90

Como se puede ver en lo anterior, el uso de la resina de intercambio iónico eliminó con eficacia el residuo de oxalato de la pectina final.

Aunque la invención se ha descrito con detalle con respecto a realizaciones específicas de la misma, se apreciará que los expertos en la técnica, tras alcanzar un conocimiento de lo anterior, pueden concebir fácilmente alteraciones, modificaciones y equivalentes de estas realizaciones. De acuerdo con esto, el alcance de la presente invención deberá evaluarse

31

como el de las reivindicaciones adjuntas y todas las equivalentes de las mismas.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para extraer pectina que tiene un grado elevado de polimerización, que comprende;

5 Añadir ácido oxálico y/o oxalato hidrosoluble a una suspensión acuosa de una piel en una cantidad suficiente para proporcionar una mezcla que tenga un pH de entre 3,0 y 3,6 y una molaridad total de oxalato superior a la molaridad total del calcio (II);

10 calentar la mezcla hasta una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80°C durante un tiempo suficiente para extraer una pectina; y

separar la pectina extraída de la mezcla precipitando la pectina extraída de la mezcla, en el que la pectina extraída tiene un grado de esterificación (DE) de al menos 72 y un elevado grado de polimerización caracterizado por una viscosidad intrínseca superior a
15 aproximadamente 6,5 dl/g.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el pH de la mezcla antes de separar la pectina extraída de la mezcla está entre 3,1 y 3,4.

20 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la mezcla se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 70 a aproximadamente 80°C durante la separación de la pectina extraída.

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además filtrar la mezcla para eliminar los sólidos insolubles después de extraer
25 la pectina y antes de separar la pectina extraída.

5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además poner en contacto la mezcla que contiene la pectina extraída con una resina de intercambio iónico antes de separar la pectina extraída.

5

6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la resina de intercambio iónico comprende una resina de intercambio catiónico seleccionada del grupo que consiste en que Lewatit® S1668, Lewatit® S1468, Purolite® C100E, y Amberlite® SR1L Na

10

7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la pectina extraída tiene un contenido en oxalato total inferior a 2,0 mg por 1 g de pectina.

8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la pectina extraída tiene un contenido en calcio total inferior a 1 mg /g.

15

9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende una o más de las etapas de lavado, prensado, desecación y molturación de la pectina extraída después de separar la pectina extraída para obtener un producto final de pectina.*

20

10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el rendimiento por piel (Y_p) es superior a aproximadamente 23 %, en el que $Y_p = 0, \cdot y_s \cdot M / W_p$ e y_s es el rendimiento de la solución (extracto líquido) en g/kg, M es la masa total de la mezcla antes de separar la pectina extraída, y W_p es el peso

25

de la piel usada en la suspensión acuosa.

11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el producto del rendimiento por piel y la viscosidad intrínseca es superior a 5 aproximadamente 165% dl/g.

12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pectina extraída tiene un grado de esterificación (DE) de al menos 75.

10 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pectina extraída tiene una viscosidad intrínseca (VI) de al menos 7,8 dl/g.

14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pectina extraída tiene una viscosidad intrínseca (VI) de al menos 8,5 dl/g.

15

15. Una pectina producida por el procedimiento de la reivindicación 1, en la que la pectina tiene un grado de esterificación de al menos 75% y una viscosidad intrínseca de al menos 6,0 dl/g

20 16. La pectina de la reivindicación 15, que tiene un grado de esterificación de al menos 76.

17. La pectina de la reivindicación 15, que tiene un grado de esterificación de al menos 78.

25

18. La pectina de la reivindicación 15, que tiene una viscosidad intrínseca de al menos 6,5 dl/g.
19. La pectina de la reivindicación 15, que tiene una viscosidad intrínseca
5 de al menos 7,5 dl/g.
20. La pectina de la reivindicación 15, que tiene una viscosidad intrínseca de al menos 8,0 dl/g.

RESUMEN

Las realizaciones de los procedimientos proporcionados en el presente documento permiten la extracción de pectinas de alta calidad a partir de materiales vegetales que contienen pectina usando ácido oxálico para la extracción del material que contiene pectina. Generalmente descrito, el procedimiento para extraer pectina que tiene un grado elevado de polimerización incluye preparar una suspensión acuosa de un material vegetal que contiene pectina, añadir ácido oxálico y/u oxalato hidrosoluble a la suspensión acuosa en una cantidad suficiente para proporcionar una mezcla que tenga un pH de entre 3,0 y 3,6 y una molaridad total del oxalato superior a una molaridad total de calcio (II), calentar la mezcla hasta una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 °C durante un tiempo suficiente para extraer pectina del material vegetal que contiene pectina y separar la pectina extraída de la mezcla. Deseablemente, la pectina extraída se caracteriza porque tiene un grado de esterificación (GE) de al menos 72 y un grado de polimerización alto, estando el grado de polimerización caracterizado por una viscosidad intrínseca superior a aproximadamente 6,5 dl/g.

FIG. 1

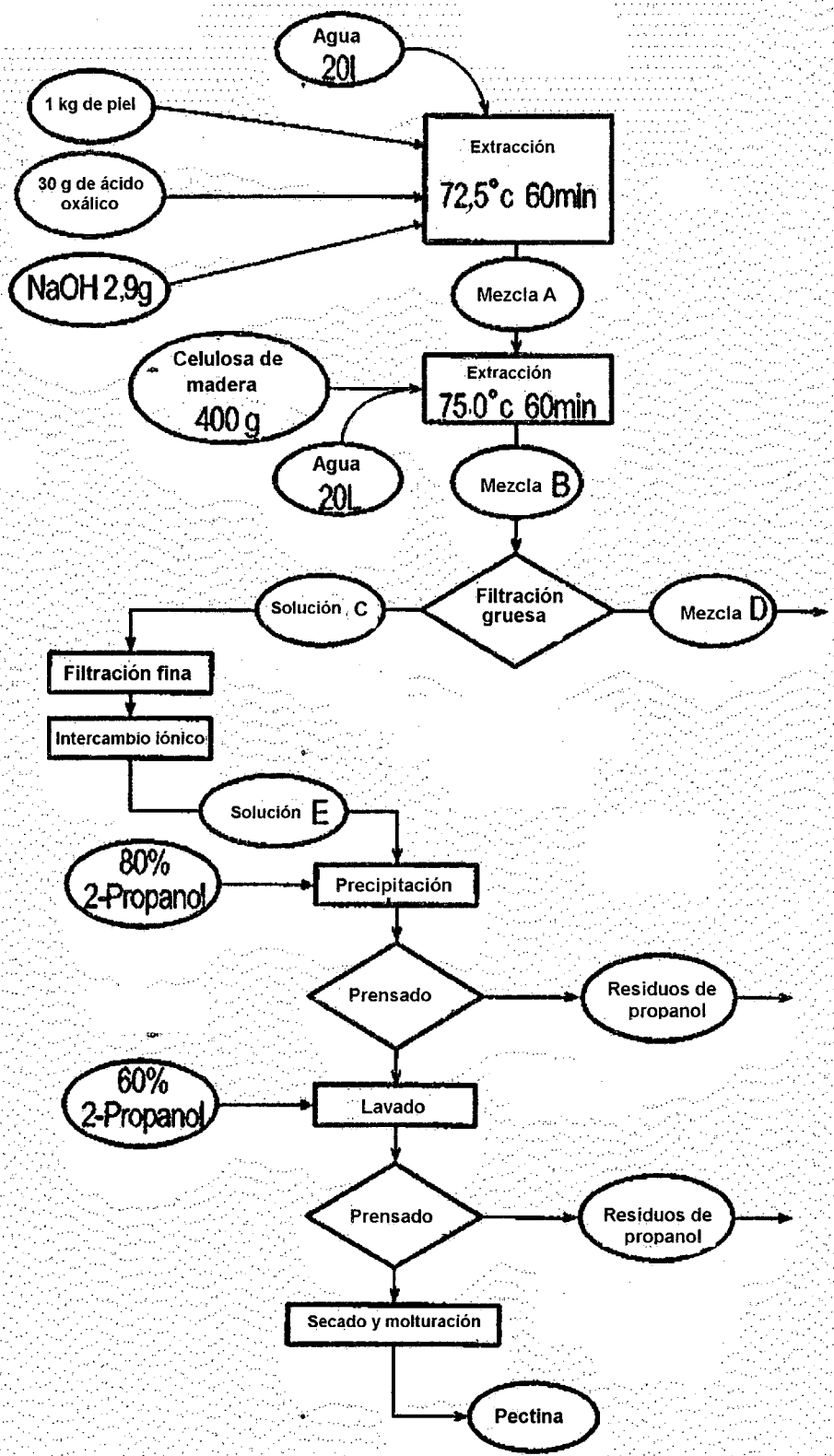
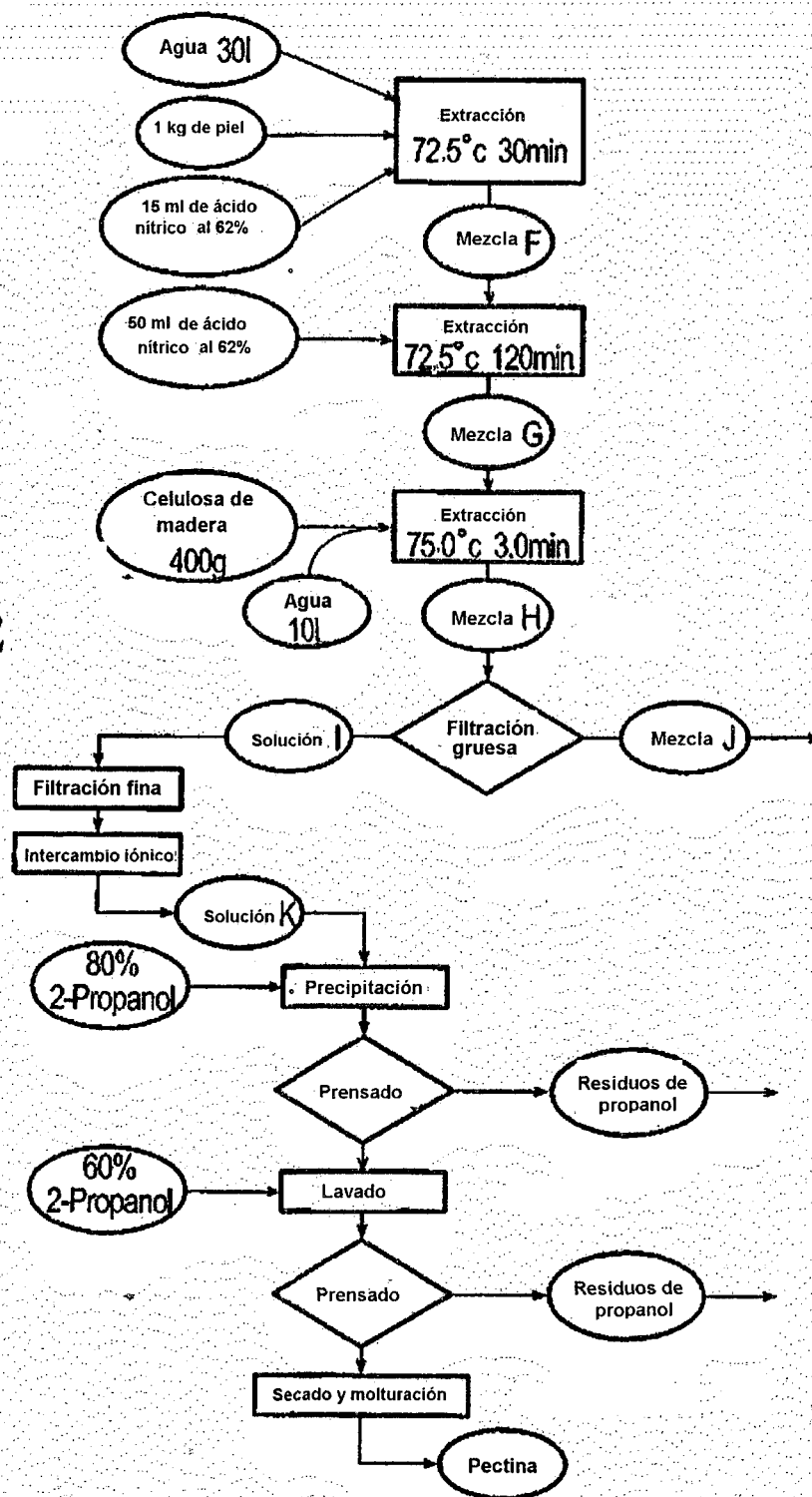
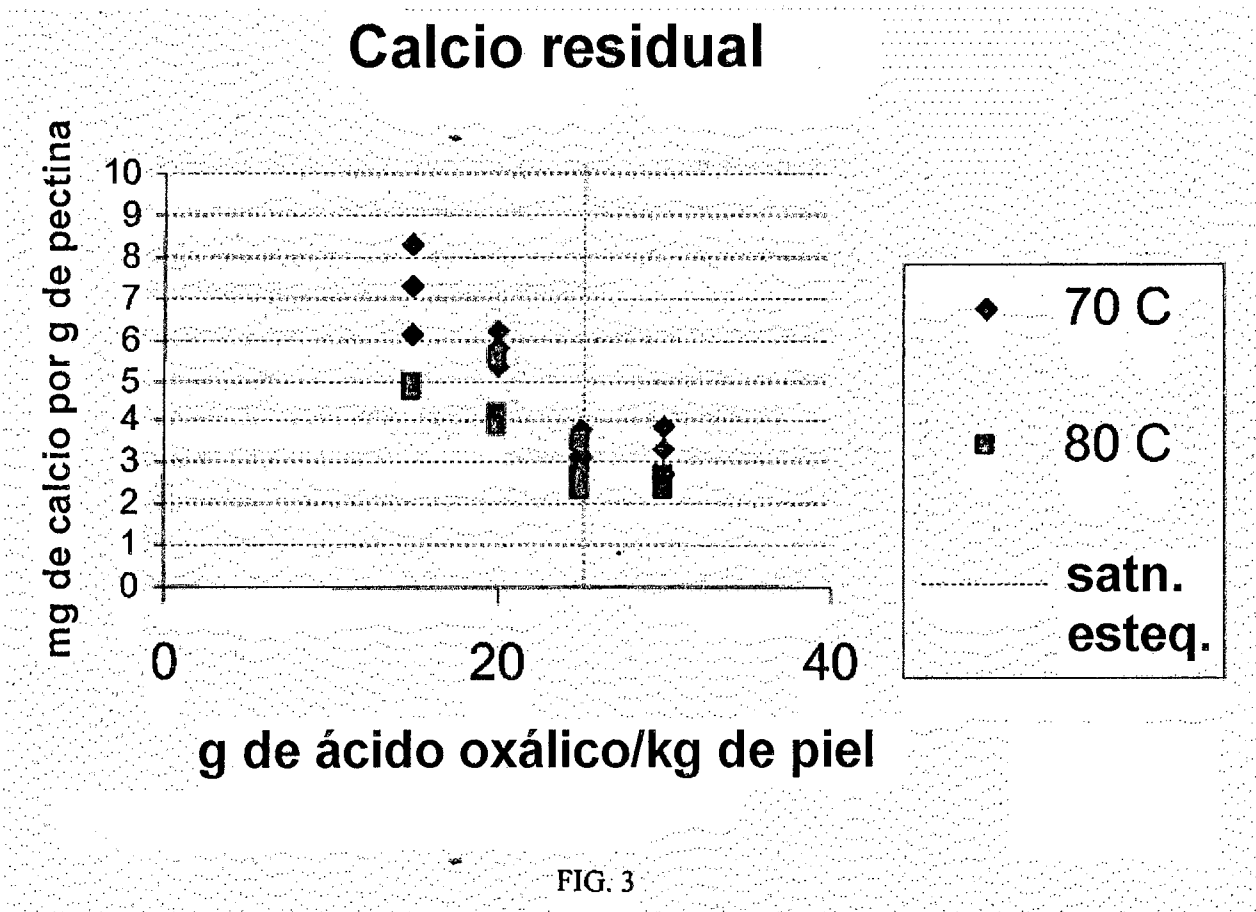
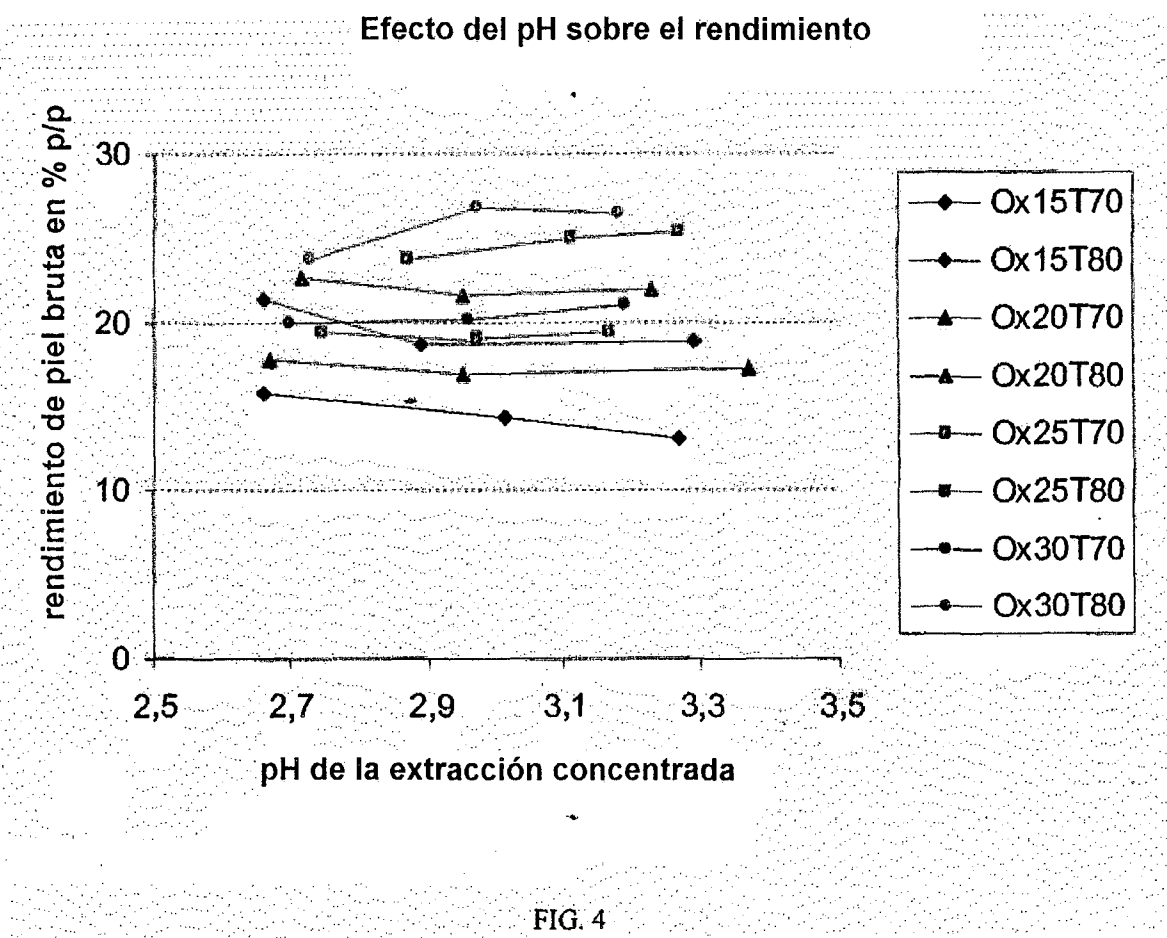
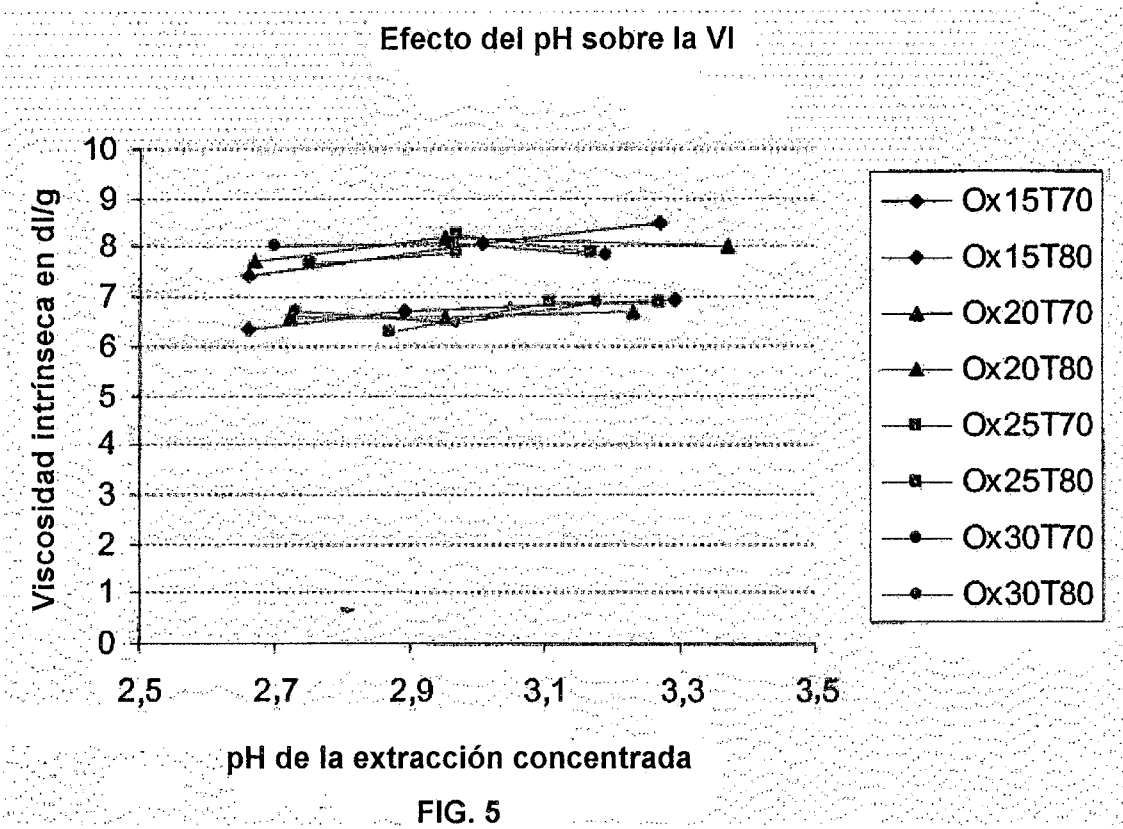


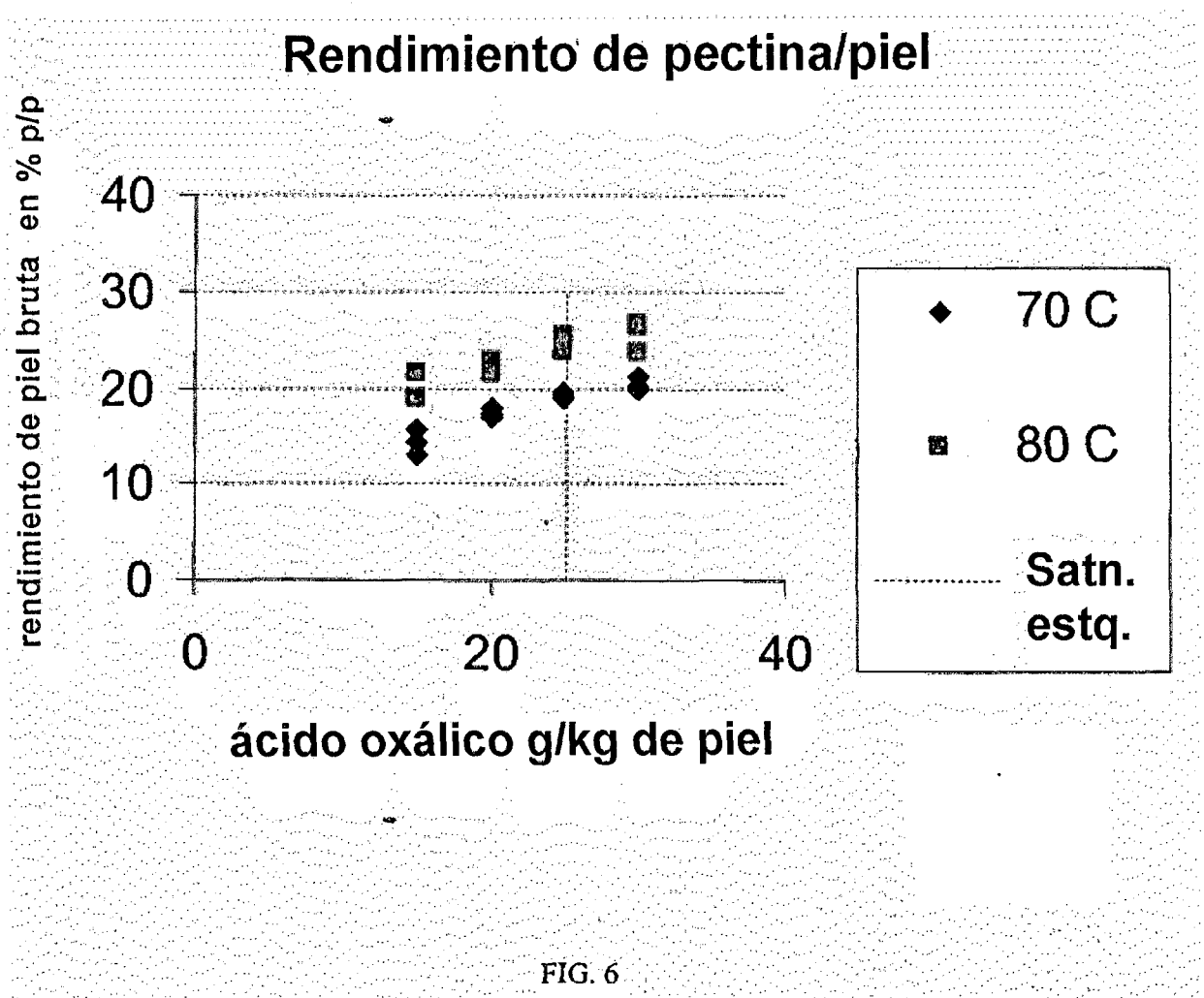
FIG. 2

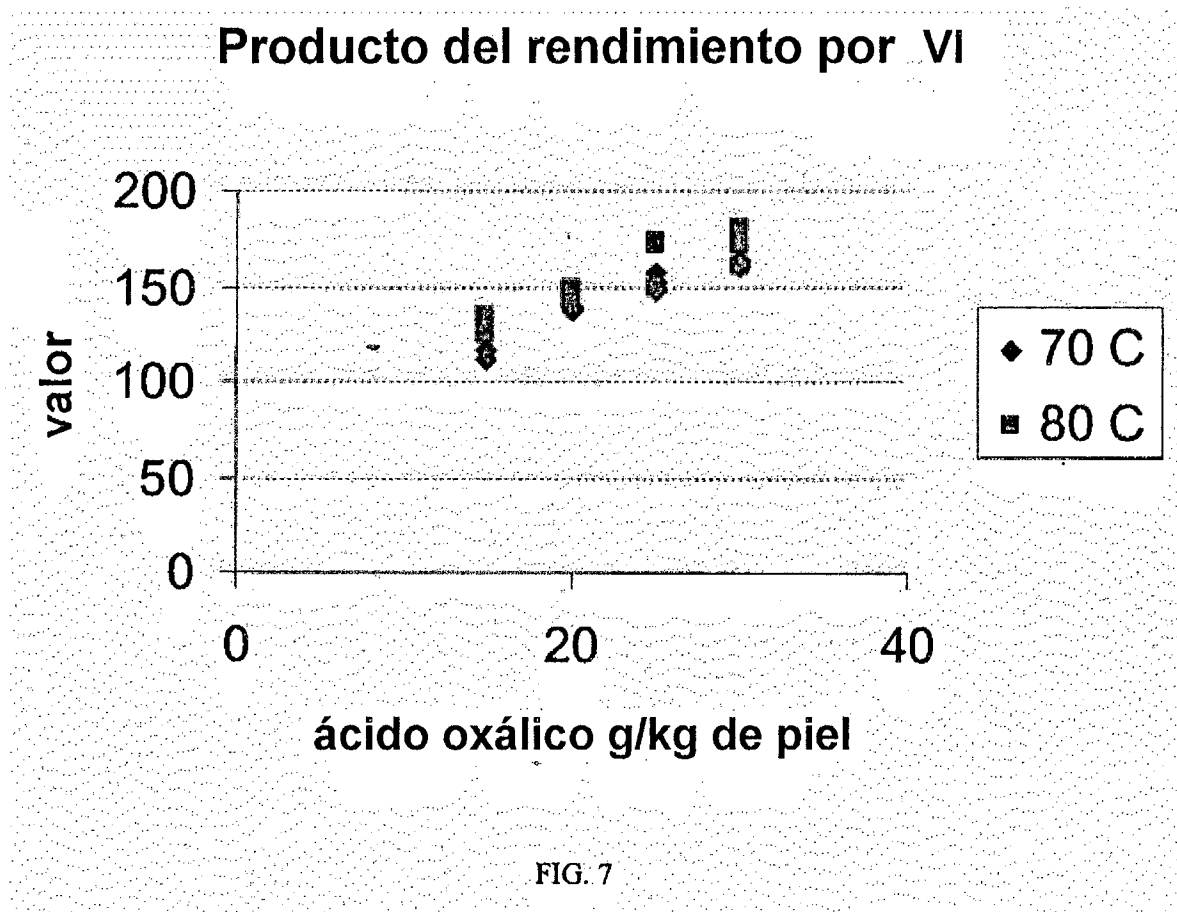












SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 115837

Bogotá D.C., Noviembre 14 de 2013 - 15:38:18

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA

NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	181288170	14/11/2013	5.835.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PC1/EP2012/055425

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-282403- -00000-0000

Fecha: 2013-12-02 16:06:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 48

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Noviembre 14 de 2013 - 15:38:21

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 122902

Bogotá D.C., Noviembre 29 de 2013 - 13:18:34

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA

NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	197792770	29/11/2013	6.094.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
10 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	300.000.00
				\$300.000.00

SON: **TRESCIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PGI/EP2012/1055425

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-282403- -00000-0000

Fecha: 2013-12-02 16:06:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 48

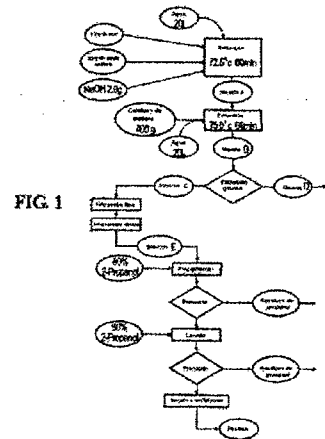
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Noviembre 29 de 2013 - 13:18:35

40

(57) Resumen: Procedimiento para la extracción de pectinas de alta calidad a partir de materiales vegetales que contienen pectina usando ácido oxálico para la extracción del material que contiene pectina. Generalmente descrito, el procedimiento para extraer pectina que tiene un grado elevado de polimerización incluye preparar una suspensión acuosa de un material vegetal que contiene pectina, añadir ácido oxálico y/u oxalato hidrosoluble a la suspensión acuosa en una cantidad suficiente para proporcionar una mezcla que tenga un pH de entre 3,0 y 3,6



y una molaridad total del oxalato superior a una molaridad total de calcio (II), calentar la mezcla hasta una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 °C durante un tiempo suficiente para extraer pectina del material vegetal que contiene pectina y separar la pectina extraída de la mezcla. Deseablemente, la pectina extraída se caracteriza porque tiene un grado de esterificación (GE) de al menos 72 y un grado de polimerización alto, estando el grado de polimerización caracterizado por una viscosidad intrínseca superior a aproximadamente 6,5 dl/g.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION X PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante(s) : **CP KELCO APS**

(72) Inventor(es) : **JENSEN, Sorem Vodstrup; SØRENSEN, Susanne Oxenbøll; ROLIN, Claus**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País
----------------	------	---------------	------	-------	------	------

13/154,381

06/06/2011

US

(85) Fecha inicio fase nacional: **06/01/2014**

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **27/03/2012**

No. de solicitud **PCT/EP2012/055425**

Publicación internacional

Fecha: **13/12/2012** Fecha (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO2012/167963 A1**

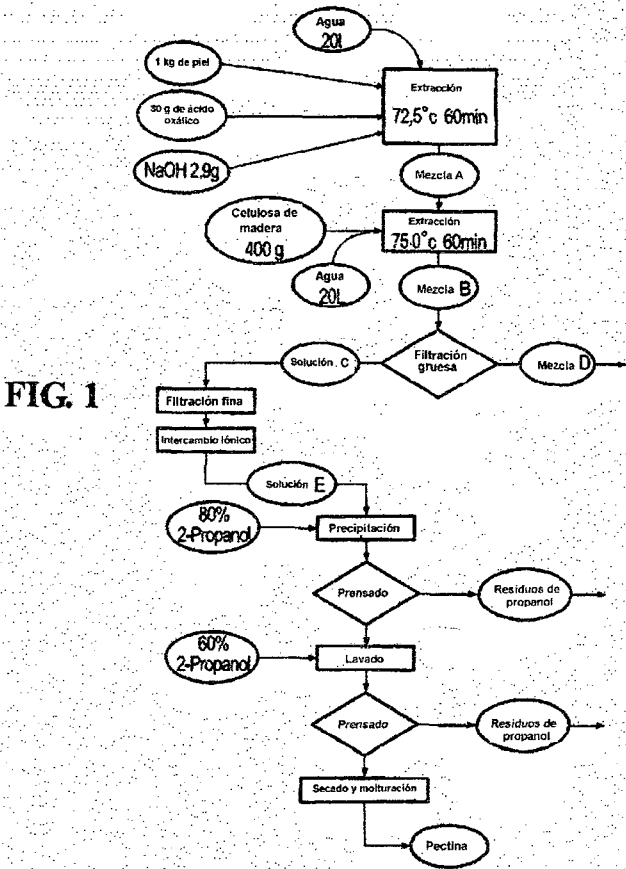
(54) TITULO: **PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE PECTINA**

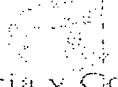
40

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION - PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud:		(51) Int Cl: (71)Solicitante CP KELCO APS (s) (72) JENSEN, Sorem Vodstrup Inventor(es) SØRENSEN, Susanne Oxenbøll ROLIN, Claus (74) JAIME EDUARDO DELGADO Apoderado: VILLEGAS	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 13/154,381	(32) Fecha 06/06/2011	(33) País US
(85) Fecha limite inicio fase nacional: Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud No. de solicitud: PCT/EP2012/055425		(87)Publicación Internacional Fecha: 13/12/2012 Fecha (dd/mm/aa) N° publicación: WO2012/167963 A1	
(54) Título:		PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE PECTINA	

Resumen

Procedimiento para la extracción de pectinas de alta calidad a partir de materiales vegetales que contienen pectina usando ácido oxálico para la extracción del material que contiene pectina. Generalmente descrito, el procedimiento para extraer pectina que tiene un grado elevado de polimerización incluye preparar una suspensión acuosa de un material vegetal que contiene pectina, añadir ácido oxálico y/u oxalato hidrosoluble a la suspensión acuosa en una cantidad suficiente para proporcionar una mezcla que tenga un pH de entre 3,0 y 3,6 y una molaridad total del oxalato superior a una molaridad total de calcio (II), calentar la mezcla hasta una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 °C durante un tiempo suficiente para extraer pectina del material vegetal que contiene pectina y separar la pectina extraída de la mezcla. Deseablemente, la pectina extraída se caracteriza porque tiene un grado de esterificación (GE) de al menos 72 y un grado de polimerización alto, estando el grado de polimerización caracterizado por una viscosidad intrínseca superior a aproximadamente 6,5 dl/g.



 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	ADMIS
--	-------

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-282403- -00000-0000

Fecha: 2013-12-02 16:06:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 48

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐ Incompleta ☐	

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐ Incompleta ☐	

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐ Incompleta ☐	

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐ Incompleta ☐	