



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DEL FLAVELO DEL FRUTO DEL NARANJO DULCE
(*CITRUS SINENSIS L.*) TIPO BLANCA, VARIEDAD VALENCIA, EMPLEANDO EL MÉTODO
DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR A NIVEL LABORATORIO, EN FUNCIÓN
DE DIFERENTES TIPOS DE CORTE Y CONTENIDO DE HUMEDAD**

Estefani Anna Marcela Lossi Nisthal

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales,
Asesorado por el Ing. Mario José Mérida Meré

Guatemala, febrero de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DEL FLAVELO DEL FRUTO DEL NARANJO DULCE
(*CITRUS SINENSIS L.*) TIPO BLANCA, VARIEDAD VALENCIA, EMPLEANDO EL MÉTODO
DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR A NIVEL LABORATORIO EN FUNCIÓN DE
DIFERENTES TIPOS DE CORTE Y CONTENIDO DE HUMEDAD**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

ESTEFANI ANNA MARCELA LOSSI NISTHAL
ASESORADO POR INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES,
ASESORADO POR ING. MARIO JOSÉ MÉRIDA MERÉ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, FEBRERO DE 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Carlos Salvador Wong
EXAMINADOR	Ing. Edwin Manuel Ortiz Castillo
EXAMINADOR	Ing. Renato Giovanni Ponciano Sandoval
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DEL FLAVELO DEL FRUTO DEL NARANJO DULCE (*CITRUS SINENSIS* L.) TIPO BLANCA, VARIEDAD VALENCIA, EMPLEANDO EL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR A NIVEL LABORATORIO, EN FUNCIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE CORTE Y CONTENIDO DE HUMEDAD

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha mayo de 2010.


Estefani Anna Marcela Lossi Nisthal

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Por ser mi luz y guía en todo momento y permitirme culminar satisfactoriamente una etapa más de mi vida.
- Virgen María** Por guardarme, iluminarme y bendecirme en la elaboración de este estudio y a lo largo de mi vida.
- Mis padres** Jaime Saúl y Ana Yvette, por creer en mí, por su infinito amor, dedicación, confianza y apoyo. Los amo.
- Mis hermanos** Jaime, Aldo, Peggi y Sharon. Gracias por su apoyo incondicional, cariño y motivación, los quiero mucho.
- Abuela** Judith Almorza, por sus bendiciones, cuidados e inmenso cariño.
- Mis tíos y primos** Por su cariño, confianza y apoyo.

AGRADECIMIENTOS A:

Jans Batres	Gracias por su apoyo y ayuda incondicional en todo momento.
Ing. Telma Cano	Por su confianza y apoyo en desarrollo de esta investigación.
Ing. Mario Mérida	Por su apoyo y atención en la elaboración del presente informe.
Ing. César García	Por su orientación y guía en la revisión de la presente investigación.
Inga. Lisely De León	Por su paciencia y apoyo en la revisión del presente trabajo.
Ing. Williams Álvarez	Por su apoyo y confianza.
Personal de LIPRONAT	Especialmente a la Inga. Zully Cruz, por el apoyo brindado en los análisis realizados.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VII
LISTA DE SÍMBOLOS	XI
GLOSARIO	XV
RESUMEN.....	XIX
OBJETIVOS/HIPÓTESIS.....	XX
INTRODUCCIÓN	XXV
1. MARCO CONCEPTUAL.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Justificación	4
1.3. Determinación del problema.....	6
1.3.1. Definición.....	6
1.3.2. Delimitación.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Aceites esenciales.....	9
2.1.1. Definición	9
2.1.2. Clasificación.....	10
2.1.2.1. Consistencia.....	10
2.1.2.1.1. Esencias fluidas.....	10
2.1.2.1.2. Bálsamos.....	10
2.1.2.1.3. Oleorresinas	10
2.1.2.2. Origen	11
2.1.2.2.1. Naturales	11
2.1.2.2.2. Artificiales	11

	2.1.2.2.3.	Sintéticos.....	11
	2.1.2.2.4.	Químico	12
2.1.3.		Métodos empleados para la extracción de aceite esencial.....	12
	2.1.3.1.	Destilación por arrastre con vapor de agua.....	13
	2.1.3.2.	Destilación con vapor.....	14
	2.1.3.3.	Hidrodestilación	14
	2.1.3.4.	Extracción con disolventes volátiles.....	16
	2.1.3.5.	Extracción con fluidos supercríticos.....	17
	2.1.3.6.	Enflorado	18
	2.1.3.7.	Lixiviación	19
	2.1.3.8.	Expresión.....	19
2.1.4.		Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales.....	20
	2.1.4.1.	Tipo de materia prima	20
	2.1.4.2.	Tiempo de deshidratación.....	20
	2.1.4.3.	Tamaño de partícula	20
	2.1.4.4.	Tiempo de extracción.....	21
	2.1.4.5.	Método de extracción.....	21
	2.1.4.6.	Características del equipo de extracción	21
	2.1.4.7.	Características de los flujos	22
	2.1.4.8.	Tratamiento de los aceites esenciales crudos	22
2.1.5.		Análisis de aceites esenciales.....	22
	2.1.5.1.	Análisis cualitativo.....	22
		2.1.5.1.1. Cromatografía de capa fina	23
		2.1.5.1.2. Cromatografía gaseosa	24
	2.1.5.2.	Análisis cuantitativo	25

	2.1.5.2.1.	Cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrometría de masas	25
2.2.		Materia Prima	26
	2.2.1.	Origen de los cítricos.....	26
	2.2.2.	Taxonomía y morfología.....	27
	2.2.3.	Requerimiento climático	28
	2.2.4.	Propagación	29
	2.2.5.	Material vegetal	30
		2.2.5.1. Variedades	30
		2.2.5.2. Tipos de variedades	31
		2.2.5.3. Descripción de algunas variedades de interés	31
3.		DISEÑO METODOLÓGICO	37
	3.1.	Variables.....	37
		3.1.1. Variables independientes	37
		3.1.2. Variable dependiente.....	37
	3.2.	Delimitación del campo de estudio	38
		3.2.1. Lugar de obtención de la materia prima	38
		3.2.2. Deshidratación del flavelo	39
		3.2.3. Extracción del aceite esencial	39
		3.2.4. Análisis fisicoquímicos	39
		3.2.5. Cromatografía de capa fina.....	40
		3.2.6. Cromatografía gaseosa con acoplamiento a espectrometría de masas (CG-MS).....	40
	3.3.	Recurso humano	40
	3.4.	Recursos materiales	41
		3.4.1. Equipo de medición	41

3.4.2.	Equipo auxiliar.....	41
3.4.3.	Cristalería.....	42
3.4.4.	Reactivos	42
3.5.	Técnica cualitativa y cuantitativa	43
3.5.1.	Determinación del tamaño de partícula.....	43
3.5.2.	Deshidratación del flavelo	46
3.5.3.	Determinación del porcentaje de humedad del flavelo fresco de naranja	48
3.5.4.	Extracción de aceite esencial por destilación por arrastre de vapor nivel laboratorio	49
3.5.5.	Determinación del rendimiento de aceite esencial.....	51
3.5.6.	Determinación de la densidad del aceite esencial	53
3.5.7.	Medición del potencial de hidrógeno.....	55
3.5.8.	Determinación del índice de refracción.....	55
3.5.9.	Cromatografía de capa fina	56
3.5.10.	Cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrometría de masas	58
3.6.	Análisis estadístico.....	59
3.6.1.	Factores.....	59
3.6.2.	Tratamientos.....	61
3.6.3.	Número de repeticiones o corridas	61
3.6.4.	Aleatorización	63
3.6.5.	Variables de respuesta	63
3.7.	Plan de análisis de los resultados	64

4. RESULTADOS.....	67
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	77
CONCLUSIONES	83
RECOMENDACIONES	87
BIBLIOGRAFÍA.....	89
APÉNDICES	91
ANEXOS.....	107

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1. Equipo neoclevenger de vidrio pyrex.....	15
2. Diagrama de causa y efecto.....	38
3. Corte con cuchillo (C1).....	43
4. Corte con rallador (C2).....	44
5. Corte a mano (C3).....	44
6. Corte con máquina cortadora de frutos cítricos (C4).....	45
7. Pesaje del flavelo.....	46
8. Deshidratación del flavelo en el secador de bandejas.....	47
9. Determinación del porcentaje de humedad del flavelo deshidratado.....	47
10. Determinación del porcentaje de humedad del flavelo fresco.....	49
11. Extracción de aceite esencial en unidades neoclevenger.....	50
12. Determinación de la densidad del aceite esencial a 25 °C.....	54
13. Fase estacionaria en la en la cámara saturada con la fase móvil.....	56
14. Determinación de Rf de limoneno, mircenol y linalool.....	57
15. Rendimiento de aceite esencial en función del tipo de corte y contenido de humedad.....	67
16. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con cuchillo.....	91
17. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con rallador.....	92

18. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado a mano	93
19. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con máquina de frutos cítricos.....	94
20. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con cuchillo.....	95
21. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con rallador.....	96
22. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado a mano.....	97
23. Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con máquina de frutos cítricos.....	98
24. Cuadro de requisitos académicos	107

TABLAS

I. Factores de estudio	60
II. Niveles de estudio del tipo de corte	60
III. Niveles de estudio del contenido de humedad del flavelo	60
IV. Tratamientos realizados en la extracción de aceite esencial	61
V. Repeticiones realizadas en la extracción de aceite esencial	62
VI. Rendimiento promedio de aceite esencial por el método de destilación por arrastre de vapor	64
VII. Análisis de varianza para el rendimiento de aceite esencial	68
VIII. Comparación del rendimiento de aceite esencial respecto el tipo de corte por el criterio de Tukey	68

IX. Comparación del rendimiento de aceite esencial respecto el porcentaje de humedad del flavelo por el criterio de Tukey HSD	69
X. Rendimiento de aceite esencial respecto el tipo de corte y porcentaje de humedad del flavelo por el criterio de Tukey HSD	69
XI. Densidad del aceite esencial de naranja	70
XII. Índice de refracción del aceite esencial de naranja obtenido del flavelo de naranja.....	70
XIII. Rf medido al aceite esencial de naranja por cromatografía de capa fina	71
XIV. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C1B1	71
XV. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C2B1	72
XVI. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C3B1	72
XVII. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C4B1	73
XVIII. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C1B2	73
XIX. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C2B2	74
X. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C3B2	74
XI. Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C4B2	75

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
B2	Base deshidratada
B1	Base fresca
cm	Centímetros
C3	Corte a mano
C1	Corte con cuchillo
C4	Corte con máquina
C2	Corte con rallador
ρ	Densidad del aceite esencial
DC	Distancia recorrida por el componente
DS	Distancia recorrida por el solvente
R_f	Frente de referencia cromatográfico

°C	Grados Celsius
g	Gramos
Hz	Hertz
Ha	Hipótesis alternativa
H	Hipótesis de trabajo
Ho	Hipótesis nula
IR	Índice de refracción
Y_{ijk}	k-jésima repetición del tratamiento ij-ésimo
μ_{ijk}	k-jésima varianza del tratamiento ij-ésimo
L	Litros
m	Metros
μL	Microlitros
mm	Milímetros
mL	Mililitros

Wm	Peso de la materia prima
Wp	Peso del picnómetro con aceite esencial
Wpo	Peso del picnómetro vacío
Wo	Peso del vial vacío
%	Porcentaje
pH	Potencial de hidrógeno
X	Rendimiento medio de aceite esencial
ΣX	Sumatoria de cada extracción de aceite esencial
Yi	Variable dependiente
Xi	Variable independiente
V	Volumen
Vp	Volumen del picnómetro
W	Watt

GLOSARIO

Apomícticas	Semillas poliembriónicas.
Bálsamo	Medicamento compuesto de sustancias aromáticas que se aplican como remedio en heridas y otras enfermedades.
Coobación	Proceso mediante el cual el agua condensada regresa al proceso durante la extracción de aceites esenciales por arrastre de vapor.
Endocarpo	Tejido duro e impermeable que se forma en el interior de los frutos para proteger la semilla.
Enflorado	Método de extracción en frío de aceites esenciales, donde el material vegetal en contacto con otro aceite o grasa vegetal, actúa como medio extractor.
Exocarpo	Capa externa del fruto donde se encuentran los aceites esenciales.
Expresión	Método de extracción que tiene como fin exprimir con máquina o a mano el material vegetal para la obtención de aceites.

Flavelo	Sinónimo de exocarpo o capa externa del fruto.
Hibridación	Acción de fecundar variedades o especies diferentes para conseguir reproducir en la descendencia algunos de los caracteres parentales.
Hidrodestilación	Operación de separación de aceites esenciales de material vegetal aromático, por volatilización mediante el uso de vapor saturado, para posteriormente ser condensados.
Injerto	Método de propagación vegetativa artificial en donde una porción de tejido procedente de una planta se une sobre otra para crecer como un solo organismo.
Maceración	Proceso de extracción sólido-líquido donde el sólido o materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractor.
Mutación	Cualquier cambio o variación en la genética de un ser vivo de manera espontánea o inducida.
Neoclevenger	Unidad utilizado en la extracción de aceites esenciales por el método de destilación por arrastre de vapor.

Partenocárpico

Fruto producido sin polinización y/o fecundación como la piña y el banano.

Terpenos

Nombre común a ciertos hidrocarburos que se encuentran en los aceites volátiles obtenidos de las plantas y frutos cítricos.

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de extraer aceite esencial del flavelo del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) variedad blanca, tipo valencia, adquirido de la región de Santa Cruz El Chol, Baja Verapaz. La extracción se llevó a cabo por el método de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio y como variables se estudiaron el tipo de corte del flavelo; con cuchillo, con rayador de frutas, a mano, y con máquina cortadora de frutos cítricos. El porcentaje de humedad del flavelo fresco: humedad mayor al 60% y deshidratado: humedad menor al 12%.

Conjugando cada uno de los niveles de las variables se desarrollaron ocho tratamientos con cinco repeticiones. A partir del análisis de varianza para cada rendimiento medio obtenido se verificó que sí existe influencia del tipo de corte y contenido de humedad del flavelo en el rendimiento de aceite esencial.

Empleando el criterio de Tukey HSD se determinó que al cortar el flavelo fresco o deshidratado con rallador se obtiene un rendimiento de 1,198%, mientras que al trabajar con materia prima fresca con cualquier tipo de corte el rendimiento de aceite esencial es de 1,068%. El rendimiento de aceite esencial de naranja óptimo se obtuvo a partir del flavelo fresco rallado con 1,8198% y el menos eficiente correspondió al flavelo deshidratado cortado con máquina con 0,390%.

Las muestras de aceite esencial obtenidas se caracterizaron fisicoquímicamente para determinar: densidad, índice de refracción, y potencial de hidrógeno obteniendo valores medios de 0,8474 g/mL, 1,474 y 6,81 respectivamente. Por separación cromatográfica gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se determinaron las especies químicas presentes en el aceite esencial de naranja, donde el limoneno fue el compuesto mayoritario en un 92%.

OBJETIVOS

General

Obtener aceite esencial del flavelo del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia, empleando el método de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio en función de diferentes tipos de corte y contenido de humedad.

Específicos

1. Evaluar el rendimiento de aceite esencial extraído del flavelo del fruto del naranjo dulce en función de las variables propuestas.
2. Caracterizar fisicoquímicamente las muestras de aceite esencial determinando densidad, índice de refracción y potencial de hidrógeno.
3. Analizar cualitativamente los componentes químicos principales en el aceite esencial, empleando cromatografía de capa fina.
4. Determinar cuantitativamente la abundancia de las especies químicas presentes en las muestras de aceite esencial, por cromatografía de gases con acoplamiento de espectrometría de masas.

HIPÓTESIS

1. Hipótesis de trabajo

El rendimiento de aceite esencial obtenido del flavelo del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia, empleando el método de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio, puede ser afectado por el tipo de corte y contenido de humedad del flavelo.

2. Hipótesis estadística

2.1. Hipótesis nula (H_0)

El rendimiento de aceite esencial obtenido del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia, empleando la técnica de destilación por arrastre de vapor, no se ve afectado significativamente por el tipo de corte y contenido de humedad del flavelo.

$$\mu_i = \mu_j$$

Donde:

μ_i : valor medio de cada parámetro respecto el tipo de corte del flavelo.

μ_j : valor medio de cada parámetro según el contenido de humedad del flavelo del fruto.

2.2. Hipótesis alternativa (Ha)

El rendimiento de aceite esencial obtenido del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia, empleando el método de destilación por arrastre de vapor, es afectado significativamente por el tipo de corte y contenido de humedad del flavelo.

$$\mu_i \neq \mu_j$$

Donde:

μ_i : valor medio de cada parámetro respecto el tipo de corte del flavelo.

μ_j : valor medio de cada parámetro según el contenido de humedad del flavelo del fruto.

INTRODUCCIÓN

El fruto del naranjo dulce, según su taxonomía corresponde a la familia rutácea, género citrus, especie (*Citrus sinensis L.*). El árbol que provee el fruto crece en clima sub-tropical donde el rango de temperaturas óptimas para el desarrollo del fruto oscila entre 23 -34 °C y altitud desde el nivel del mar hasta 1500 metros. Dicho fruto ha sufrido numerosas modificaciones debidas a la selección natural e hibridaciones, tanto naturales como producidas por el hombre.

En Guatemala se cultivan diversas variedades, actualmente la variedad blanca, tipo Valencia es la de mayor producción principalmente en la región de Baja Verapaz, esta variedad se caracteriza por su agradable sabor, tamaño mediano, zumo abundante y pocas semillas.

Los aceites esenciales de cítricos son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias y semillas. Son productos químicos intensamente aromáticos, no grasos, alterables con la luz, volátiles, livianos, insolubles en agua, solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Todos los aceites esenciales son antisépticos, pero cada uno tiene sus virtudes específicas, como: analgésicos, fungicidas, diuréticos o expectorantes.

Los aceites esenciales de cítricos son muy inestables y para su obtención se utilizan principalmente dos métodos: destilación por arrastre de vapor y extracción por presión o expresión. La extracción del aceite esencial del flavelo del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*), variedad blanca, tipo valencia se realizó por destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio, a partir de cuatro diferentes tipos de corte con diferente contenido de humedad; fresco y deshidratado.

Las muestras obtenidas fueron caracterizadas fisicoquímicamente, lo cual permitió conocer los parámetros que pueden influir en las diferentes aplicaciones que puede tener el aceite esencial de naranja, desde aplicaciones en productos de cuidado personal y belleza, hasta fines curativos y de relajación; además, conociendo su rendimiento se puede establecer una relación en el posible costo de producción de este preciado aceite esencial, ya sea a nivel laboratorio o industrial, para estudios futuros.

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1. Antecedentes

Diversos han sido los estudios realizados con el objetivo de conocer más sobre los aceites esenciales de cítricos, dada la versatilidad de aplicación en la industria cosmética y alimentaria que presentan. Un valioso estudio realizado por los señores Yáñez Rueda, Lugo Mancilla L. y Parada Parada D. (2006), realizado en la Universidad de Pamplona, se enfocó en la caracterización del aceite esencial obtenido del flavelo del naranjo dulce especie (*Citrus sinensis L.*) por hidrodestilación asistida por radiación de microondas, con el propósito de dar una alternativa más, al aprovechamiento de este cítrico cultivado en la región de Labateca al norte de Santander, Colombia.

El estudio colombiano sobre el aceite esencial de naranja dulce, corresponde a un modelo de tecnología aplicada a la extracción de productos fragantes, donde la metodología de extracción y los análisis realizados proporcionaron una referencia enriquecedora y actual al estudio del aceite esencial del flavelo del naranjo dulce, obtenido a partir de diferentes tipos de corte y contenido de humedad del flavelo, realizado en la Universidad de San Carlos de Guatemala.

La Norma mexicana NMX-F-063-1978 y una recopilación de estudios realizados con la participación de las Empresas Firmenich y Pepsi Cola, establecen las características y especificaciones regulatorias que debe cumplir el aceite de naranja dulce (*Citrus sinensis L.*), extraído por centrifugación u otro método mecánico para aplicaciones en la industria alimentaria y cosmética. La

norma presentó datos apreciables para una referencia de los parámetros fisicoquímicos que un aceite esencial de calidad debe cumplir, para las aplicaciones mencionadas.

En la Universidad Autónoma de Chapingo (México), la Unidad Gestora de Servicios Tecnológicos (2002), elaboró un informe donde ampliamente da a conocer los factores a tomar en cuenta para dar valor agregado a los cítricos, debido a que en México más de 90000 familias dependen de estos frutos. El estudio presenta un análisis de la problemática que enfrenta la actividad citrícola en México, principalmente en los aspectos de industrialización y comercialización, a partir de ello el objetivo de la investigación consiste en proporcionar alternativas factibles de economía, para cuatro tipos de frutos cítricos: naranja, toronja, limón mexicano y limón persa.

Este modelo impulsador corresponde a una situación que se presenta actualmente en Guatemala donde los cítricos son producidos en abundancia y se comercializan sin aprovechar al máximo sus beneficios, y no se le da el valor agregado que la naturaleza les provee mejorando la economía de sectores que actualmente se encuentran inactivos.

En Guatemala se han realizado estudios sobre la extracción de aceites esenciales de cítricos con diferente propósito, los Ingenieros Químicos José Eduardo Calderón García, César Alfonso García Guerra y Ramón Benjamín Piedrasanta Batz (1998), realizaron un estudio con el apoyo del Fondo Nacional de Ciencia y tecnología (FODECYT), sobre la optimización de variables de proceso de extracción de aceites esenciales a nivel industrial de cinco especies de cítricos limón persa (*citrus aurantifolia*), limón criollo (*citrus latifolia*), naranja valencia (*citrus sinensis*), mandarina (*citrus reticulata*) y naranja Washington (*citrus sp.*).

El objetivo del proyecto FODECYT radicó en el aprovechamiento del potencial económico de las hojas y flavelo de cada cítrico, como producto del desecho de la industria de cítricos en Guatemala, y proporcionar datos reales sobre el costo de inversión en una planta industrial empleando el método de arrastre de vapor para la extracción, el costo producción de aceite esencial y el precio del producto para un lanzamiento al mercado.

En la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala se han realizado estudios a nivel de tesis sobre la extracción de aceites esenciales empleando la técnica de arrastre con vapor a nivel laboratorio y planta piloto, asesorados por la Ingeniera Química, Telma Maricela Cano Morales entre los cuales cabe mencionar el estudio elaborado por Cinthya Patricia Ortiz Quiroa (2005) sobre la obtención de aceite esencial de las hojas de laurel de dos variedades de especies (*litsea glaucescens HBK*) y (*litsea guatemalensis Mez.*) a nivel laboratorio.

El trabajo de investigación de Sergio Iván Lima Aguirre (2005) donde realizó la extracción de aceite esencial de dos especies medicinales de eucalipto: *eucalyptus globulus* y *eucalyptus cinere*. La materia prima utilizada fue deshidratada y los métodos consistieron en extraer el aceite por destilación con arrastre de vapor directo a nivel laboratorio y planta piloto. El estudio de Mauricio Leonardo De León Juárez (2008) donde en su trabajo de graduación evaluó la diferencia en el rendimiento de dos especies de eucalipto *eucalyptus citriodora* de una edad aproximada de cinco años y *eucalyptus camaldulensis* de una edad aproximada de dos años, a nivel laboratorio. En ambos estudios la técnica de arrastre con vapor ha sido efectiva y ha permitido obtener rendimientos favorables, por lo que es considerado una técnica satisfactoria para esos fines.

1.2. Justificación

Guatemala es un país con biodiversidad de flora, donde las condiciones climáticas favorecen la actividad agrícola. El 61% de la población habita en el área rural y depende de esta actividad para satisfacer sus necesidades de ingresos. La población económicamente activa agrícola constituye el 58,6%, es decir, alrededor de 1.86 millones de personas laboran en ese sector. El 23,85% del Producto Interno Bruto (PIB) es generado en el sector agropecuario aportando el 61,5% de las divisas por exportaciones.

Por esa razón, el presente estudio surge con el objetivo de abordar la necesidad de dar un valor agregado a los frutos cítricos, específicamente el naranjo dulce (*citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia que presenta un alto porcentaje de cultivo en Guatemala, por ser un país con condiciones climáticas en diversas regiones, principalmente en Santa Cruz El Chol y Rabinal, municipios del departamento de Baja Verapaz.

En el municipio de Santa Cruz El Chol no se le ha dado un enfoque industrial al naranjo dulce, ya sea en la producción de jugo, o en la extracción de sus aceites esenciales; sin embargo, el fruto es recolectado para su comercialización en el territorio nacional y exportaciones. El aceite esencial obtenido del flavelo del naranjo dulce proporciona un valor agregado, que va en función de su rendimiento y los gastos de producción del mismo. El estudio va más allá, permitiendo establecer las condiciones óptimas de extracción de aceite esencial en función del tipo de corte y porcentaje de humedad del flavelo, para servir de base en proyectos futuros.

El corte que se le realice al flavelo puede mejorar la extracción de aceite esencial, debido a que el tamaño de partícula es un factor influyente en el proceso de transferencia de masa. Se plantearon cuatro tipos de corte sencillos, que comúnmente, son realizados artesanalmente en Guatemala como: corte con cuchillo, con rallador de frutos y vegetales, a mano y con máquina peladora de cítricos.

El porcentaje de humedad de la materia prima es relevante cuando se trata de material vegetal, y es en este parámetro donde el estudio pretende demostrar qué condiciones son más favorables en el rendimiento de aceite esencial, fresco; con un porcentaje de humedad mayor al 60% o deshidratado con porcentaje de humedad menor al 12%.

Conocer las condiciones óptimas de extracción, de acuerdo a los parámetros de estudio propuestos, beneficiará la actividad económica de las personas que cultivan en esa región, y las cooperativas que se dedican a comercializar y procesar el fruto.

1.3. Determinación del problema

1.3.1. Definición

Los aceites esenciales de cítricos actualmente tienen un impacto en la industria alimenticia y cosmética, pero hasta ahora no se tiene un estudio amplio que dé la pauta de identificar cómo se debe preparar el flavelo para que aporte un rendimiento óptimo de aceite esencial en el proceso de destilación con arrastre de vapor, es por ello que la propuesta de cuatro diferentes tipos de corte sencillos y artesanales, en estado fresco y deshidratado, permitan conocer las condiciones más eficientes que aportan un

valor adicional al que actualmente tiene el fruto en la región de cultivo, aprovechando el flavelo del mismo, para que éste no sea parte del desecho.

1.3.2. Delimitación

El fruto del naranjo dulce tipo blanca, variedad Valencia, se recolectó en la aldea El Chol, en el municipio de Santa Cruz El Chol, del departamento de Baja Verapaz y fue proporcionado por miembros de la Cooperativa de Producción Integral Las Palmas R.L., aldea Espíritu Santo, municipio El Júcaro, departamento de El Progreso.

Como variables independientes se establecieron el tipo de corte con cuatro niveles; con cuchillo, con rallador de frutos, a mano y con máquina para cortar frutos cítricos. El contenido de humedad; fresco y deshidratado. La técnica de extracción consistió en destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio.

A partir de la combinación de cada uno de los niveles de las variables mencionadas, con cinco corridas propuestas se realizó la extracción de aceite esencial para cada uno de los tratamientos organizados en cinco bloques de ocho tratamientos, elegidos de manera aleatoria para comparar y analizar el rendimiento de aceite esencial a cada una de las condiciones propuestas.

Las muestras de aceite esencial obtenidas, se caracterizaron fisicoquímicamente para determinar propiedades como: densidad, índice de refracción, potencial de hidrógeno y composición de las especies químicas principales; empleando para ello, cromatografía de capa fina y cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrometría de masas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Aceites Esenciales

2.1.1. Definición

Los aceites esenciales son productos químicos que forman los componentes odoríferos de un gran número de vegetales. El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla y en las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales.

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter, aceites vegetales y minerales. Los aceites esenciales proceden de las flores, frutos, hojas, raíces, semillas y corteza de los vegetales. Los aceites se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor.

Se desconoce la función exacta de un aceite esencial en un vegetal; puede ser para atraer los insectos para la polinización, o para repeler a los insectos nocivos, o puede ser simplemente un producto metabólico secundario. Los aceites volátiles se pueden obtener de las plantas o frutos por extrusión, maceración y arrastre de vapor.

2.1.2. Clasificación

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

2.1.2.1. Consistencia

De acuerdo a su consistencia los aceites esenciales se clasifican en: esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas.

2.1.2.1.1. Esencias fluidas

Son líquidos volátiles a temperatura ambiente.

2.1.2.1.2. Bálsamos

Son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.

2.1.2.1.3. Oleorresinas

Son extractos de especias, que se obtienen por tratamiento de la droga seca con disolventes. Los disolventes empleados son eliminados casi completamente por procesos de destilación al vacío, destilación azeotrópica, o ambas. Tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas.

Tienen uso en las industrias de alimentos y de medicamentos, sustituyendo a las plantas secas o las tinturas. Las oleorresinas contienen aceites esenciales, aceites fijos, colorantes y principios activos de las plantas.

2.1.2.2. Origen

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como: naturales, artificiales y sintéticos.

2.1.2.2.1. Naturales

Se obtienen directamente de la planta y no sufre modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas.

2.1.2.2.2. Artificiales

Se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes; por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecidas con linalool, o la esencia de anís enriquecida con anetol.

2.1.2.2.3. Sintéticos

Como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes en su mayoría por procesos de síntesis química, estos son los más económicos.

2.1.2.3. Químico

Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios. Según esto los aceites esenciales se denominan:

- Monoterpenoides: hierbabuena, albahaca, salvia
- Sesquiterpenoides: copaiba, pino, y junípero
- Fenilpropanoides: clavo, canela, anís

Aunque esta clasificación es muy general, resultará útil para propósitos de estudiar algunos aspectos fitoquímicos de los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos.

2.1.3. Métodos empleados para la extracción de aceite esencial

Los aceites esenciales se obtienen en su mayoría por destilación. Los siguientes procesos pueden ser considerados: destilación por arrastre con vapor de agua y la destilación directa con vapor de agua. Además de la destilación, los aceites esenciales pueden ser obtenidos por extracción con disolventes volátiles, extracción con fluidos supercríticos, enflorado, maceración y expresión.

2.1.3.1. Destilación por arrastre con vapor de agua

La extracción con vapor, generalmente se lleva a cabo a presión atmosférica: si los componentes del aceite pueden sufrir hidrólisis, el proceso se efectúa a presión reducida. Este método es uno de los más utilizados para la extracción de aceites esenciales crudos. Para extraerlos se debe contar con un equipo de extracción de pequeñas dimensiones si se trata de una determinación experimental en laboratorio y de mayor tamaño, si es una tarea a nivel industrial.

Los extractores constan de las siguientes partes: una fuente de calor que genera vapor, un recipiente para alojar la hierba con agua, un colector del aceite esencial separado y un refrigerante para los vapores. La materia prima seca o húmeda se coloca en unas rejillas, las cuales van dentro de un macerador donde se inyecta directamente vapor saturado o sobre calentado, el cual es provisto por una caldera y a presiones más elevadas que la atmosférica, el vapor se dirige hacia arriba, atravesando la masa vegetal, arrastrando así el aceite esencial.

El vapor de agua atraviesa la hierba colocada en el recipiente, extrae y arrastra el aceite esencial que tiene bajo punto de volatilización y lo lleva hasta el refrigerante, donde al enfriarse se condensa y se separa el agua del aceite por densidad. Si el aceite es menos denso, queda en la superficie y si es más denso que el agua, va al fondo; de esta manera es fácil separarlo. Coobación es el proceso mediante el cual el agua condensada regresa al proceso, después de ser separada del aceite.

El retorno del agua condensada tiene por objetivo minimizar las pérdidas de componentes polares, principalmente de los fenoles disueltos en el agua. Sin embargo, la permanencia de componentes solubles en el agua durante más tiempo da como resultado una mayor posibilidad de hidrólisis o la descomposición térmica, principalmente en el caso de la destilación con agua.

2.1.3.2. Destilación con vapor

Este proceso es similar al anterior, con la única diferencia de no existir agua en el fondo del recipiente. El vapor de agua, saturado o sobrecalentado, y frecuentemente a una mayor presión que la atmosférica es introducida, atravesando el material colocado sobre un soporte. La gran ventaja de este proceso consiste en que la cantidad de vapor de agua puede ser controlada.

El proceso de destilación con vapor da como resultado riesgos menores de degradación térmica y constituye el proceso más utilizado por la industria de aceites esenciales, principalmente cuando se trata de la producción de aceites esenciales para la fabricación de perfumes.

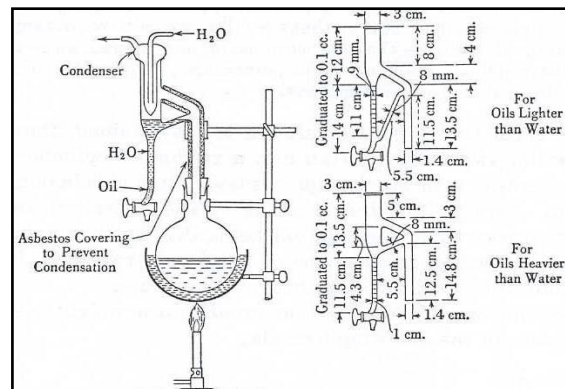
2.1.3.3. Hidrodestilación

Operación de separación del aceite esencial de una planta aromática por volatilización, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica para posteriormente ser condensado. La materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor de dos maneras, suspendida en el agua si es realizada con equipo a nivel laboratorio o formando un lecho compacto a nivel piloto o industrial.

De manera general, la hidrodestilación se describe de la siguiente manera: la materia prima vegetal es cargada en un hidrodestilador, de manera que forme un lecho fijo compactado. Su estado puede ser molido, cortado, entero o la combinación de éstos. El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho. La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente).

Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es arrastrado, corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluyen hacia un condensador, mediante un cuello de cisne o prolongación curvada del conducto de salida del destilador. En el condensador, la mezcla es condensada y enfriada, hasta la temperatura ambiental separada en un decantador dinámico o florentino.

Figura 1. **Equipo neoclevenger de vidrio pyrex**



Fuente: FINNEMORE, Horace. *The Essential Oils*. Estados Unidos: D. Van Nostrand. 1926, p. 18.

2.1.3.4. Extracción con disolventes volátiles

Este método es utilizado para muchos tipos de flores en varios países. Está basado en el hecho de que los disolventes volátiles penetran rápidamente en los pétalos y disuelven, con las ceras y algunas materias colorantes, casi todas las sustancias odoríferas naturales.

En este método la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes, tales como: alcohol, cloroformo, etc. Éstos solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias como grasas y ceras, obteniéndose al final, una esencia impura.

La eliminación del disolvente a baja temperatura da un aceite concentrado, semisólido, llamado concreto. Este producto puede ser tratado con alcohol de gran concentración, en el cual no son solubles la parte de las ceras; después de la refrigeración, para eliminar la mayor cantidad posible de cera disuelta, la solución alcohólica se concentra a presión reducida para obtener un absoluto sin alcohol.

Si el procedimiento se hace en frío a temperatura menor a 50 °C el aceite llevará el nombre de aceite virgen, si la temperatura es mayor a 50 °C los ácidos grasos se envician. Entre los equipos utilizados para la extracción con disolventes es el soxhlet, una máquina de extracción semicontinua, donde una de las fases, el sustrato, se agrega sola al principio, mientras que el disolvente de extracción cumple un ciclo de extracción y purificación continua. La purificación se realiza en forma paralela por destilación del disolvente, de manera que el sustrato siempre está en contacto con el disolvente puro.

Se utiliza a escala de laboratorio, pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión o incendio de muchos disolventes orgánicos volátiles.

2.1.3.5. Extracción con fluidos supercríticos

Este método es reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaqueta en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra de un líquido supercrítico (por ejemplo dióxido de carbono líquido).

De esta forma las esencias son solubilizadas y arrastradas, y el líquido supercrítico que actúa como disolvente extractor, se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, finalmente se obtiene una esencia pura.

Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el disolvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia; sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones.

2.1.3.6. Enflorado

En el método de enflorado o *enfleurage*, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en este aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. El método de extracción con grasa fría es sencillo y consiste en poner en contacto las flores con una capa delgada de grasa dentro de cámaras pequeñas. Al desprenderse el perfume de las flores, se fija en la grasa, debido a su gran afinidad, y después de renovar varias veces las flores se dejan los pétalos 24 horas sobre la grasa (cuerpo).

Pasado 60 días aproximadamente, al final del período de recolección, la grasa (que no ha sido renovada) llega a estar saturada con el aceite de la flor. La extracción alcohólica de la grasa olorosa, denominada pomada, da una solución llamada extracto; eliminando el alcohol por destilación. También puede efectuarse el enflorado sobre carbón, no se diferencia nada el procedimiento; otro sistema de enflorado consiste en usar paños de tela muy absorbentes de algodón impregnados de aceite, después se exprimen los paños y se obtiene un aceite perfumado, tanto el aceite como la grasa que se usan, deben ser previamente purificados y desodorizados.

Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.

2.1.3.7. Lixiviación

La lixiviación se asemeja a la extracción por disolventes, la diferencia es que el material permanece varios días sumergido; en este sistema se usa aceite, grasa fundida, y alcohol etílico. El proceso clásico de maceración consiste en dejar la sustancia en contacto con el disolvente durante varios días, con agitación ocasional. Este proceso, también conocido como lixiviación simple o estática, es sumamente lento. Para abreviar el tiempo de operación, la sustancia y el disolvente deben mantenerse en movimiento constante. Este procedimiento es conocido como lixiviación dinámica.

Tanto la lixiviación simple como la dinámica pueden ser ejecutadas a una temperatura ambiente o a temperaturas elevadas. En este último caso el procedimiento es conocido como digestión. La maceración fue un proceso importante antes de la introducción de los métodos modernos de extracción con disolventes volátiles.

2.1.3.8. Expresión

En este método, la finalidad es exprimir por máquinas o a mano el fruto o la planta, produciendo la misma calidad y cantidad del aceite, es el método aplicado en forma comercial. La expresión a mano con esponja produce el aceite de mayor calidad. Aquí, la fruta se parte y la piel se moja, se sumerge por varias horas; cada cáscara se prensa contra una esponja y el aceite se absorbe en ella. Este método de extracción está prácticamente limitado a los aceites obtenidos de frutos cítricos.

2.1.4. Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales

Entre los factores que intervienen directamente en el rendimiento de la producción de aceites esenciales crudos se pueden enumerar los siguientes:

2.1.4.1. Tipo de materia prima

Se refiere a las características genéticas de la planta, ya que existe diferencia, aun dentro de la variedad de familias; además la materia prima también está influida por el lugar y la época de producción, por la maduración o edad de la planta, de las hojas y por la limpieza en el corte, enfermedades de la planta, entre otros.

2.1.4.2. Tiempo de secado

Dependiendo del tiempo de secado, la planta tendrá más o menos cantidad de agua, por lo que el rendimiento se verá influido según este factor.

2.1.4.3. Tamaño de partícula

El área de transferencia y la cantidad de compartimientos abiertos dependen del tamaño de partícula, así como el flujo de vapor en los métodos que emplean arrastre con vapor.

Los aceites esenciales crudos son frecuentemente rectificadas para remover los constituyentes indeseables. Para evitar la degradación del aceite esencial crudo se destila al vacío. Los tres principales peligros a que están sometidos los aceites esenciales crudos son: el aire, la luz y el calor.

El oxígeno del aire tiene un efecto oxidante sobre los aceites almacenados, mientras que la luz también afecta el color y la fragancia de los aceites, según la mayoría de los autores, probablemente por polimerización. El calor actúa como catalítico, acelerando estos procesos indeseables. El agua, el aire y la luz deben ser excluidos al máximo al almacenar aceites esenciales. Los recipientes deberán estar completamente llenos y herméticamente cerrados.

2.1.4.4. Tiempo de extracción

Se refiere al tiempo del proceso de extracción, en el cual el aceite de la planta es extraído gradualmente.

2.1.4.5. Método de extracción

Se refiere al tipo de método utilizado como hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, enflorado, entre otros.

2.1.4.6. Características del equipo de extracción

El tamaño del equipo según su dimensión puede ser; a escala laboratorio, piloto o industrial. El material de construcción depende de la dimensión de trabajo éste puede ser: vidrio tipo pyrex para escala laboratorio, cobre o acero inoxidable a nivel piloto o industrial.

2.1.4.7. Características de los flujos

Se refiere a la cantidad de materia prima utilizada, el volumen y la pureza del disolvente utilizado, la cantidad de agua o vapor empleado, su temperatura y presión.

2.1.4.8. Tratamiento de los aceites esenciales crudos

Éstos contienen impurezas suspendidas, y apreciable contenido de mezclas, las cuales degradan su calidad. La presencia de impurezas afecta el almacenamiento, calidad del aceite y acelera la polimerización. Para la eliminación de humedad se deben adicionar agentes secantes como el sulfato de sodio, permaneciendo el aceite por varias horas, pasando luego por filtración.

2.1.5. Análisis de los aceites esenciales

2.1.5.1. Análisis cualitativo

Debido a la diversidad de grupos funcionales que pueden estar presentes en los componentes mono y sesquiterpénicos de un aceite esencial, no existe una prueba específica para su reconocimiento. Sin embargo, existen diversos procedimientos experimentales que permiten reconocer algunos de ellos por su coloración con diferentes reactivos, su absorción de luz UV de 254 nm y su R_f en cromatografía en capa fina.

A partir de dichos aceites, es posible realizar su aislamiento mediante la utilización de uno o varios métodos cromatográficos como la cromatografía en columna, en capa fina y cromatografía líquida. Para las cromatografías en columna y en capa fina se utiliza ampliamente la sílica gel como fase estacionaria. Como fase móvil se emplea solventes apolares puros o mezclados.

Sin embargo, actualmente se utilizan técnicas de separación más eficientes y rápidas como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), y la cromatografía de gases (GC), como también combinaciones, cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrofotometría de masas (GC-MS).

2.1.5.1.1. Cromatografía de capa fina

Ésta se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte. Los requisitos son: un adsorbente, placas, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas.

La fase móvil es líquida y la estacionaria consiste en un sólido. La estacionaria será un componente polar y el eluyente, por lo general, será menos polar que la fase estacionaria, la polaridad del disolvente influye, asimismo, en la velocidad de ascensión del soluto a lo largo de la capa de adsorbente. A mayor polaridad del disolvente, mayor grado de ascensión del soluto por la placa.

Bajo unas determinadas condiciones experimentales, un compuesto dado puede recorrer una cierta distancia a lo largo de la placa. Se denomina R_f a la relación existente entre la distancia recorrida por el compuesto y la recorrida por el disolvente en el mismo tiempo, es decir: $R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$ naturalmente, los valores de R_f para un determinado compuesto varían ampliamente con los cambios de disolvente.

El valor de R_f para un compuesto dado depende de su estructura y es una constante física de éste, lo mismo su punto de fusión. Puede calcularse el valor de R_f para cada compuesto en cualquier cromatograma, bajo determinadas condiciones experimentales.

2.1.5.1.2. Cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa es un método de separación en el cual los componentes de una mezcla se reparten entre dos fases: la estacionaria (sólida), que posee una superficie de exposición muy grande, y la móvil, que es un gas que circula en contacto con la fase estacionaria. La muestra se vaporiza en el sistema de inyección y es transportada por la fase móvil gaseosa (gas de arrastre), a través de la columna.

El reparto o partición de los componentes de la muestra con la fase estacionaria, se basa en sus diferentes solubilidades en esta fase, a una temperatura dada. Por lo tanto, los componentes de la mezcla (solutos o analitos) se separan entre sí, con base en sus presiones de vapor relativas y de acuerdo a sus afinidades con la fase estacionaria.

Este tipo de proceso cromatográfico se denomina elución. Los principales componentes en un sistema de cromatografía gaseosa son: la fuente de gas portador, el sistema de inyección, el horno que contiene la columna, el detector y el sistema de registro e integración.

2.1.5.2. Análisis cuantitativo

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados, todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato del que se dispone para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos.

Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando se analizan muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar, por lo que, un acoplamiento de espectrofotometría al sistema permite una cuantificación de las especies presentes.

2.1.5.2.1. Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas

La espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes. Debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente.

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, *gas chromatography* (GC) y *mass spectrometry* (MS), da lugar a una técnica combinada que permite la separación e identificación de mezclas complejas. La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS) requiere sistemas especiales de conexión.

Una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica, obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados, que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas.

En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma o *total ion current* (TIC).

2.2. Materia prima

2.2.1. Origen de los cítricos

Se originaron hace unos 20 millones de años en el sudeste asiático. Desde entonces, hasta ahora han sufrido numerosas modificaciones debidas a la selección natural y a hibridaciones, tanto naturales como producidas por el hombre. La dispersión de los cítricos, desde sus lugares de origen se debió fundamentalmente a los grandes movimientos migratorios ocurridos a lo largo de la historia. Mutaciones espontáneas han dado origen a numerosas variedades de naranjas que actualmente se conocen.

2.2.2. Taxonomía y morfología

- Familia: rutácea.
- Género: citrus.
- Especie: *citrus sinensis L.*
- Porte: reducido (6-10 m). Ramas poco vigorosas (casi tocan el suelo). Tronco corto.
- Hojas: limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas.
- Flores: ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mayor cuajado y mejores frutos dan.
- Fruto: hesperidio, consta de las siguientes partes:
 - Exocarpo o flavelo: presenta vesículas que contienen aceites esenciales
 - Mesocarpo o alvelo: pomposo y de color blanco
 - Endocarpo o pulpa: presenta tricomas con jugo

La variedad Navel presenta frutos supernumerarios (ombligo), que aparecen dentro del fruto principal por una aberración genética. Tan sólo se produce un cuaje del 1%, debido a la escisión natural de las flores, pequeños frutos y botones cerrados.

Para mantener un mayor porcentaje de cuajado es conveniente refrescar la copa mediante riego por aspersión, dando lugar a una ralentización del crecimiento, de forma que la carga de frutos sea mayor y de menor tamaño. El fenómeno de la partenocarpia es bastante frecuente (no es necesaria la polinización como estímulo para el desarrollo del fruto). Existen ensayos que indican que la polinización cruzada incrementaría el cuaje, pero el consumidor no desea las naranjas con semillas. Algunos sufren apomixis celular (se produce un embrión sin que haya fecundación).

2.2.3. Requerimiento climático

Es una especie subtropical. El factor limitante más importante es la temperatura mínima, no tolera las inferiores a -3 °C. Ni las heladas, ya que sufren tanto las flores y frutos como la vegetación, que pueden desaparecer totalmente. Presenta escasa resistencia al frío (a los 3-5 °C bajo cero la planta muere).

No requiere horas-frío para la floración. No presenta reposo invernal, sino una parada del crecimiento por las bajas temperaturas (quiescencia), que provocan la inducción de ramas que florecen en primavera. Necesita temperaturas cálidas durante el verano para la correcta maduración de los frutos.

Requiere importantes precipitaciones (alrededor de 1,200 mm), que cuando no son cubiertas hay que recurrir al riego. Necesitan un medio ambiente húmedo, tanto en el suelo como en la atmósfera. Es una especie ávida de luz para los procesos de floración y fructificación, que tienen lugar preferentemente en la parte exterior de la copa y faldas del árbol.

Por tanto, la fructificación se produce en copa hueca, lo cual constituye un inconveniente a la hora de la poda. Es muy sensible al viento, sufriendo pérdidas de frutos en pre-cosecha por transmisión de la vibración. Necesitan suelos permeables y poco calizos y un medio ambiente húmedo, tanto en el suelo como en la atmósfera. Se recomienda que el suelo sea profundo para garantizar el anclaje del árbol, una amplia exploración para una buena nutrición y un crecimiento adecuado.

Los suelos deben tener una proporción equilibrada de elementos gruesos y finos (textura), para garantizar una buena aireación y facilitar el paso de agua, además de proporcionar una estructura que mantenga un buen estado de humedad y una buena capacidad de cambio catiónico. No toleran la salinidad y son sensibles a la asfixia radicular.

2.2.4. Propagación

En teoría, en los cítricos es posible la propagación sexual mediante semillas que son apomícticas (poliembriónicas) y que vienen saneadas. No obstante la reproducción a través de semillas presenta una serie de inconvenientes: dan plantas que tienen que pasar un período juvenil, además son bastante más vigorosas y presentan heterogeneidad.

Por tanto, es preferible la propagación asexual y en concreto mediante injerto de escudete a yema velando en el mes de marzo, dando prendimientos muy buenos. Si se precisa de reinjertado para cambiar de variedad, se puede hacer el injerto de chapa que también da muy buenos resultados. El estaquillado es posible en algunas variedades de algunas especies, mientras que todas las especies se pueden micropropagar, pero en ambos casos solamente se utilizarán como plantas madre para posteriores injertos.

2.2.5. Material vegetal

2.2.5.1. Variedades

Principales factores a tener en cuenta para la elección de la variedad: aspectos comerciales, características de cultivo, influencia del pie sobre la variedad.

- Aspectos comerciales: comportamiento en el mercado, demanda, precios, período de recolección y comercialización, así como climatología de la zona: posible precocidad, heladas, vientos, etc.
- Características de cultivo de las variedades: productividad, entrada en producción, vigor, características del fruto (tamaño, calidad de la corteza, número de gajos, cantidad de zumo, azúcares (g/l), acidez (g/l), semillas por fruto, color, rusticidad, resistencia a humedades, aguante en el árbol, problemas productivos, aptitud para consumo en fresco, etc.
- Influencia del pie sobre la variedad: especialmente en aquellos aspectos que sean determinantes en la variedad (precocidad) o problemáticas (piel, características organolépticas, etc.).

La elección depende en gran medida de la postura o carácter del agricultor: puede inclinarse hacia variedades especulativas, más arriesgadas y con un comportamiento futuro incierto o hacia variedades más estables y arraigadas.

2.2.5.2. Tipos de variedades

Pueden considerarse 3 tipos varietales:

- Navel: buena presencia, frutos partenocárpicos de gran tamaño, muy precoces. Destacan las variedades: Navelate, Navelina, Newhall, Washington navel, Lane late y Thompson. Se caracterizan por tener, en general, buen vigor.

- Blancas: dentro de este tipo destaca la Salustiana y Valencia Late (presenta frutos de buena calidad con una o muy pocas semillas y de buena conservación). Se caracterizan por ser árboles de gran vigor, frondosos, tamaño medio a grande y hábito de crecimiento abierto, aunque tienen tendencia a producir chupones verticales muy vigorosos, en el interior de la copa.

- Sanguinas: variedades muy productivas, en las que la fructificación predomina sobre el desarrollo vegetativo. Son variedades con brotaciones cortas y los impedimentos en la circulación de la savia dan lugar al endurecimiento de ramas. Destaca la variedad Sanguinelli.

2.2.5.3. Descripción de algunas variedades de interés

- Navelina
 - Tipo: navel.

 - Árbol: tamaño mediano, forma más o menos redondeada, hojas de color muy oscuro.

- Frutos: tamaño medio, forma redondeada o ligeramente ovalada, sin semillas, pulpa muy jugosa, piel de color naranja intenso, ombligo poco prominente.

Es la variedad de naranjo más resistente al frío y a la cal. Presenta tendencia a la alternancia de cosechas. Suele desverdizarse para adelantar la recolección. Entra rápidamente en producción y lo hace abundantemente. Es una de las variedades más cultivadas, de gran calidad para el consumo en fresco.

- Newhall

- Tipo: navel.
- Es una mutación de Washington navel, variedad muy semejante a la Navelina. En algunas zonas se adelanta unos días respecto a ésta.

- Washington navel

- Tipo: navel
- Árbol: tamaño medio, forma redondeada, hojas de color oscuro, tiene tendencia a florecer abundantemente, lo que dificulta el cuajado.
- Frutos: medios o grandes, esféricos o algo alargados, color naranja, ombligo visible al exterior, sin semillas.

Es una variedad de recolección temprana a media, durante un período bastante largo, desde diciembre hasta mayo, según la zona. Es una de las variedades más cultivadas en España y en el mundo debido a su gran calidad para consumo en fresco

- Navelate

- Tipo: navel.
- Árbol: tamaño grande y vigoroso, con espinas, especialmente en las ramas más vigorosas, hojas de color verde poco intenso.
- Frutos: tamaño medio y forma alargada, piel fina de color naranja pálido, ombligo poco visible al exterior, sin semillas, pulpa muy jugosa de extraordinaria calidad.

Originaria de España (Vinaroz, Castellón) procede de una mutación de Washington navel, el fruto de esta variedad puede mantenerse en el árbol, sin que se produzcan mermas de calidad tres meses.

- Lane late

- Tipo: navel.
- Árbol: vigoroso, hojas de color verde oscuro y follaje denso.
- Fruto: muy similar al fruto de Washington navel, con el ombligo menos pronunciado y la corteza más fina.

Es una variedad de maduración tardía, el fruto se conserva bien en el árbol hasta finales de mayo. Buena y constante productividad. Puede ser una variedad interesante para prolongar el periodo de recolección.

- Valencia late
 - Tipo: blanca.
 - Árbol: vigoroso, de gran tamaño, se adapta bien a diversos climas y suelos.
 - Frutos: tamaño mediano, forma redondeada, pocas semillas, zumo abundante y de calidad.

El origen de esta variedad no se conoce. Es una variedad de maduración tardía, se recolecta en marzo, aunque se puede mantener en el árbol varios meses. Existe una selección mejorada de esta variedad, la Valencia Delta seedless, originaria de Sudáfrica.

- Salustiana
 - Tipo: blanca.
 - Árbol: tamaño muy grande, suelen salir ramas verticales vigorosas, hojas de color verde claro, suele presentar alternancia de cosechas.
 - Frutos: tamaño mediano, forma redonda-achatada, sin semillas, pulpa muy jugosa, zumo muy abundante y de calidad.

Recolección desde febrero a marzo. Se conserva bien en cámaras frigoríficas. En árboles vigorosos se evitarán las podas intensas.

- Verna
 - Tipo: blanca.
 - Árbol: vigoroso y con buen desarrollo; puede florecer fuera de temporada.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

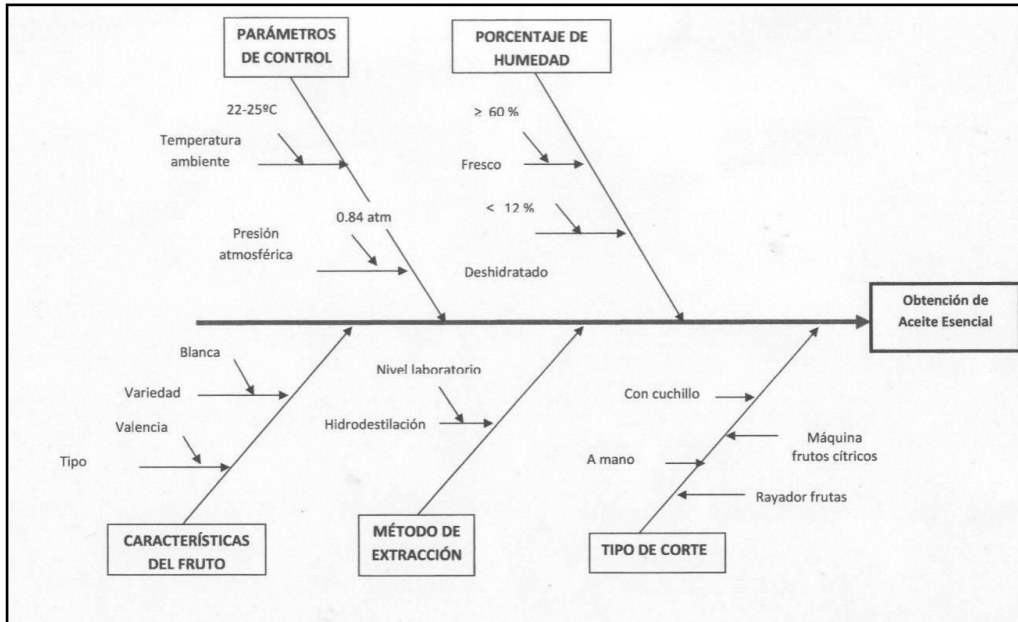
3.1.1. Variables independientes

Se realizó una experimentación bifactorial: dos factores o variables. El tipo de corte, con cuatro niveles: con cuchillo, con rallador, a mano y con máquina para cortar frutos cítricos. El porcentaje de humedad presenta dos niveles: fresco y deshidratado.

3.1.2. Variable dependiente

La variable de respuesta consistió en el rendimiento de aceite esencial obtenido del flavelo del fruto del naranjo dulce (*citrus sinensis L.*) variedad blanca, tipo Valencia, empleando la técnica de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio.

Figura 2. Diagrama causa y efecto de las variables de trabajo en el proceso de extracción de aceite esencial de naranja



Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación del campo de estudio

3.2.1. Lugar de obtención de la materia prima

Se recolectó en la aldea El Chol, en el municipio de Santa Cruz El Chol, del departamento de Baja Verapaz, con coordenadas geográficas de latitud 14° 57' 40" y longitud 90° 29' 16", ubicada a 199 kilómetros de la ciudad de Guatemala.

3.2.2. Deshidratación del flavelo

La deshidratación de la materia prima se realizó hasta obtener la humedad del exocarpo menor al 12%. Valor de humedad recomendado por la Normativa de la Organización Mundial de la Salud para deshidratación de alimentos.

Este proceso se llevó a cabo en el secador eléctrico de bandejas con flujo transversal, unidad ubicada en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), Sección Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII) en la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), ciudad universitaria zona 12.

3.2.3. Extracción de aceite esencial

Se realizó con la técnica por arrastre de vapor de agua empleando, dos neoclevenger, unidades ubicadas en el LIEXVE, sección Química Industrial de la USAC.

3.2.4. Análisis fisicoquímicos

Los análisis para la determinación de parámetros fisicoquímicos como: densidad, índice de refracción y potencial de hidrógeno se llevaron a cabo en el LIEXVE, sección Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII), de la USAC.

3.2.5. Cromatografía de capa fina

La determinación cualitativa de los grupos principales presentes en el aceite esencial por la técnica cromatográfica de capa fina se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), ciudad universitaria zona 12.

3.2.6. Cromatografía gaseosa con acoplamiento a espectrometría de masas (CG-EM)

El análisis cuantitativo de las especies principales en el aceite esencial se realizó en el Departamento de Toxicología, Facultad Ciencias de Ciencias Químicas y Farmacia, de la USAC.

3.3. Recurso humano

- Investigadora: Estefani Anna Marcela Lossi Nisthal
- Asesores: Inga. Telma Maricela Cano Morales
Ing. Mario José Mérida Meré
- Revisor: Ing. César Alfonso García Guerra

3.4. Recursos materiales

3.4.1. Equipo de medición

- Secador eléctrico de bandejas de flujo transversal. Potencia 12000 W.
- Balanza de humedad marca BOECO.
- Refractómetro marca Fisher Scientific, modelo: Espectroflash SF 300.
- Picnómetro de 1,088 mL.
- Potenciómetro marca Hanna.
- Balanza analítica marca Adventure, serie: G1231202040, voltaje: 8-14,5 V, frecuencia: 50/60 Hz.
- Cronómetro

3.4.2. Equipo auxiliar

- Plancha de calentamiento marca CORNING, modelo: PC-620, voltaje: 120 V, frecuencia: 60 Hz, potencia: 1113 W.
- Soportes y pinzas de acero inoxidable para asegurar el neoclevenger.
- Cromatoplaaca de sílica 20 x 20 cm, marca Merck.
- Cuchillo

- Rallador
- Máquina cortadora de frutos cítricos

3.4.3. Cristalería

- Balón de 500 mL para equipo de extracción neoclevenger
- Probeta de 250 mL
- Viales ámbar de 5 mL
- Equipo para extracción de aceites esenciales neoclevenger

3.4.4. Reactivos

- Etanol al 95%
- Agua destilada
- Acetato de etilo
- Tolueno
- Ácido acético glacial
- Ácido sulfúrico
- Metanol

3.5. Técnica cualitativa y cuantitativa

Para la obtención de aceite esencial se emplearon diferentes técnicas cuantitativas para determinar parámetros como: densidad, humedad, rendimiento y composición química. Como técnicas cualitativas se trabajaron: el tipo de corte, la identificación de especies químicas en el aceite esencial por cromatografía de capa fina, la apariencia de la materia prima y del aceite esencial. El conjunto de técnicas empleadas permitieron estudiar la influencia de las variables en el rendimiento de aceite esencial, obtenido del flavelo de naranja.

3.5.1. Determinación del tamaño de partícula

Figura 3. Corte con cuchillo (C1)



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

Figura 4. **Corte con rallador (C2)**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

Figura 5. **Corte a mano (C3)**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC

Figura 6. **Corte con máquina de frutos cítricos (C4)**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

3.5.2. Deshidratación del flavelo

- Pesar 50 gramos de flavelo con el mismo tipo de corte (con cuchillo, a mano, con rallador y con máquina cortadora de frutos cítricos).

Figura 7. **Pesaje del flavelo**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

- Colocar la muestra en las bandejas del secador en forma homogénea.
- Ajustar la temperatura del secador de bandejas a 50° C y realizar la deshidratación por un período de dos horas.

Figura 8. **Deshidratación del flavelo en el secador de bandejas**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

- Tomar una muestra del flavelo de cada tipo de corte, después de un tiempo de secado.
- Medir la humedad de cada tipo de corte en la balanza de humedad.

Figura 9. **Determinación de la humedad del flavelo deshidratado**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

- Si las muestras no presentan el porcentaje de humedad dentro del rango establecido, prolongar el tiempo de deshidratación hasta obtener el porcentaje de humedad menor al 12%.
- Repetir el procedimiento para cada una de las repeticiones restantes.

3.5.3. Determinación del contenido de humedad del flavelo fresco

- Tarar la bandeja de la balanza de humedad.
- Colocar cada muestra de flavelo fresco en la bandeja de la balanza de humedad.
- Realizar la lectura de humedad en la termobalanza.
- Verificar que el porcentaje de humedad del flavelo sea mayor al 60%.
- Repetir el procedimiento anterior para cada tipo de corte.
 - El porcentaje de humedad del flavelo para cada tratamiento se muestra en el apéndice B.

Figura 10. **Determinación de la humedad del flavelo fresco**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

3.5.4. Extracción de aceite esencial empleando la técnica de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio

- Lavar las secciones del neoclevenger con etanol y agua.
- Pesar 50 gramos de flavelo con el mismo tipo de corte y colocarlo en un balón de 500 mL.
- Agregar al balón 500 mL de agua destilada para humedecer todo el material.
- Acoplar el balón con el material vegetal al neoclevenger, manteniendo el agua de recirculación a una temperatura de 10 °C.
- Calentar el balón empleando una plancha o manto hasta ebullición.
 - Iniciada la ebullición, tomar el tiempo de destilación para dos horas.

Figura 11. **Extracción de aceite esencial en unidades neoclevenger**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

- Posterior al tiempo de destilación, se suspendió el calentamiento hasta no obtener destilado.
- Separar la fase oleosa de la fase acuosa empleando una jeringa.
- Verter el aceite esencial en un frasco ámbar previamente tarado.
- Pesar el frasco con el contenido de aceite esencial en la balanza analítica.
- Repetir el proceso anterior para cada tipo de corte de flavelo fresco.
- Continuar el procedimiento con las muestras de flavelo deshidratado.

3.5.5. Determinación del rendimiento de aceite esencial

- Pesar 50 gramos de flavelo fresco de cada tipo de corte, previo a introducirlo al balón.
 - El peso del flavelo para cada tratamiento previo a la extracción, se muestra en el apéndice B.
- Realizar el proceso de extracción en el equipo neoclevenger por un período de dos horas.
- Separar la fase oleosa de la fase acuosa empleando una jeringa.
- Pesar el vial vacío.
 - El peso de los viales vacíos se muestra en el apéndice B.
- Colocar el aceite esencial en un frasco ámbar previamente tarado.
- Pesar el frasco con el contenido de aceite esencial en la balanza analítica.
- Establecer el peso de aceite esencial por diferencia de pesos del vial vacío y el vial con aceite esencial.
 - El peso de aceite esencial de cada tratamiento se muestra en el apéndice B.

- El rendimiento se determina como la razón del peso del aceite respecto el peso del flavelo medido al inicio del proceso.
 - Cálculo del rendimiento de aceite esencial

$$\%Rendimiento = \left(\frac{W_f - W_o}{W_m} \right) \times 100$$

Ecuación 1

Donde:

Wf: peso final del aceite esencial en el vial (g)

Wo: peso del vial vacío (g)

Wm: peso de la materia prima o flavelo (g)

- Los valores del rendimiento de aceite esencial de naranja se muestran el apéndice B.
- Repetir el proceso para cada tipo de corte del flavelo fresco y deshidratado.
- Promediar el rendimiento de aceite esencial de las cinco extracciones realizadas por tratamiento.

- Cálculo del rendimiento medio de aceite esencial de naranja.

$$X = \left(\frac{\sum X}{n} \right)$$

Ecuación 2

Donde:

- X: rendimiento medio de aceite esencial para cada tratamiento (%)
- $\sum X$: sumatoria de rendimiento de aceite esencial en cada tratamiento (%)
- n: número de repeticiones realizadas

- Los valores de rendimiento medio de aceite esencial se muestran en el apéndice B.

3.5.6. Determinación de la densidad del aceite esencial

- Tarar un picnómetro de 1,088 mL limpio y seco.
- Verter la muestra de aceite esencial en el picnómetro.
- Realizar el pesaje del picnómetro con la muestra
- Medir la temperatura del aceite esencial.
- Determinar la densidad del aceite esencial.

Figura 12. **Determinación de la densidad del aceite esencial a 25 °C**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, USAC.

- Cálculo de la densidad del aceite esencial de naranja a 25 °C.

$$\rho = \left(\frac{W_p - W_{po}}{V_p} \right) \times 100$$

Ecuación 3

Donde:

W_p : peso final del picnómetro con aceite esencial (g)

W_{po} : peso del picnómetro vacío (g)

V_p : volumen del picnómetro; constante para todas las corridas 1,088 mL

- Los valores de densidad del aceite esencial se muestran en el apéndice B.

3.5.7. Medición del potencial de hidrógeno

- Calibración del electrodo con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10.
- Enjuague del electrodo con agua destilada.
- Colocar el electrodo en la muestra de aceite.
- Realización de la lectura de pH.
 - Los valores de potencial de hidrógeno del aceite esencial se muestran en el apéndice B.

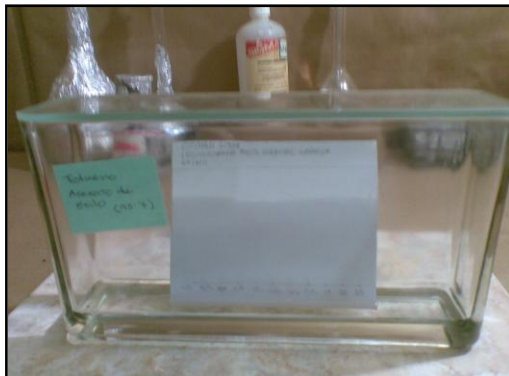
3.5.8. Índice de refracción

- Limpieza del lente.
- Colocar una pequeña cantidad de aceite esencial en la placa del refractómetro.
- Enfocar la luz en la muestra y realizar la lectura.
 - Los valores de índice de refracción del aceite esencial se muestran en el apéndice B.

3.5.9. Cromatografía de capa fina

- Saturar la cámara con una mezcla de tolueno y acetato de etilo 93:7 por 30 minutos.
- Cortar la cromatoplaqa por la mitad y realizar una marca a un centímetro de distancia del borde superior e inferior de la misma.
- Realizar marcas cada centímetro a lo ancho de la placa para colocar las muestras y los estándares de limoneno, mirceno y l-linalool.
- Colocar 5 uL de muestra y 2,5 uL de estándar con un capilar en la posición asignada.
- Colocar la cromatoplaqa en la cámara hasta que el solvente alcance la marca superior.

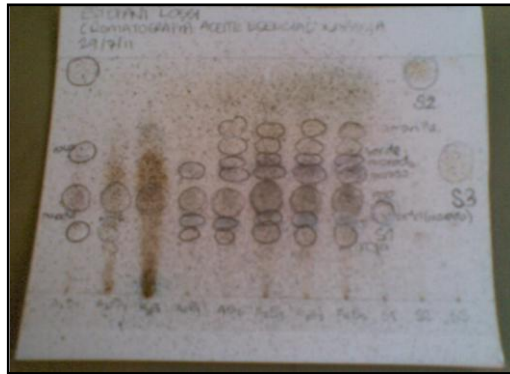
Figura 13. Fase estacionaria en la cámara saturada con la fase móvil



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, USAC.

- Retirar de la cámara y esperar a que la cromatoplaaca seque.
- Preparar el solvente revelador mezclando 0,5 mL de anisaldehído con 10 mL de ácido acético glacial, seguido de 85 mL de metanol y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Asperjar la placa hasta humedecerla empleando un atomizador.
- Colocar la muestra en el horno a 100 °C por 3 minutos.
- Identificar las manchas y medir los Rf de las muestras.

Figura 14. **Determinación de Rf del limoneno, mirceno y linalool**



Fuente: elaboración propia. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, USAC.

- Cálculo del Rf por análisis de Cromatografía de Capa Fina

$$Rf = \frac{DC}{DS}$$

Ecuación 4

Donde:

RF: frente de referencia entre componente y solvente

DC: distancia recorrida por los componentes (cm)

DS: distancia recorrida por el solvente tolueno-acetato de etilo 93:7 (cm)

- Los valores de Rf del limoneno, mirceno y linalool se muestran en el apéndice B.

3.5.10. Cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrometría de masas

Las muestras obtenidas de aceite esencial de naranja se almacenaron en frascos ámbar y se refrigeraron para evitar que el aceite esencial se volatilizara. Se analizaron las muestras de cada tratamiento en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC, utilizando el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM).

Este método consistió en inyectar en el cromatógrafo una cantidad de 0,6 uL de aceite esencial a partir de una dilución de 10 uL del extracto en 1 mL de metanol. Por este método se realizó la identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial, por medio de iones que comparan su peso molecular con el del patrón utilizado y luego se graficó en un cromatograma.

Cada pico del cromatograma representa un tiempo de retención al que se le asigna un área porcentual con un nivel de confianza que indica la probabilidad de presencia de un determinado componente en la muestra, para luego identificarlo y nombrarlo según la librería contenida en el programa. Los cromatogramas y los componentes identificados en el aceite esencial para cada tratamiento se muestran en el apéndice A.

3.6. Análisis estadístico

3.6.1. Factores

El estudio realizado presentó dos factores o variables: el tipo de corte X_1 y porcentaje de humedad X_2 . El tipo de corte del flavelo consta de cuatro niveles: con cuchillo, con rayador, a mano y con máquina para cortar frutos cítricos. El porcentaje de humedad presentó dos niveles: fresco y deshidratado. La variable de respuesta: Y consistió en el rendimiento de aceite esencial obtenido del flavelo del fruto del naranjo dulce (*Citrus sinensis L.*) tipo blanca, variedad Valencia, por arrastre de vapor a nivel laboratorio.

Tabla I. **Factores de estudio**

Independientes	Dependientes
X1: Tipo de corte	Y: Rendimiento de aceite esencial
X2: Porcentaje de humedad	

Fuente: elaboración propia.

Tabla II. **Niveles de estudio del tipo de corte**

Tipo de corte	
C1	Con cuchillo
C2	Con rallador
C3	A mano
C4	Con máquina

Fuente: elaboración propia.

Tabla III. **Niveles de estudio de contenido de humedad del flavelo**

Humedad	Según normativa OMS
B1: fresco	Mayor al 60%
B2: deshidratado	Menor al 12%

Fuente: normativa de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para alimentos.

3.6.2. Tratamientos

Se definieron ocho tratamientos correspondientes a cada una de las combinaciones de los respectivos niveles de las variables independientes sujetas a estudio.

Tabla IV. **Tratamientos realizados en la extracción de aceite esencial**

C1B1	C1: con cuchillo, B1: fresco
C2B1	C2: con rallador, B1: fresco
C3B1	C3: a mano, B1: fresco
C4B1	C4: con máquina, B1: fresco
C1B2	C1: con cuchillo, B2: deshidratado
C2B2	C2: con rallador, B2: deshidratado
C3B2	C3: a mano, B2: deshidratado
C4B2	C4: con máquina, B2: deshidratado

Fuente: elaboración propia.

3.6.3. Número de repeticiones o corridas

Fueron cinco repeticiones propuestas para cada tratamiento ordenadas y seleccionadas por bloques, realizando el procedimiento experimental a partir de la selección aleatoria de los bloques o columnas, posterior a la selección al azar de cada uno de los tratamientos propuestos.

Este tipo de diseño experimental permitió facilitar la detección de errores sistemáticos arrastrados por el manejo del equipo, y las condiciones del ambiente. El modelo en bloques se ajustó al estudio, debido a que las condiciones de análisis son controladas y el rendimiento de aceite esencial no se ve afectado por las variables de temperatura o presión en el entorno.

Tabla V. **Repeticiones realizadas para la extracción de aceite esencial**

Tratamiento	Corrida					Media	
	1	2	3	4	5		
C1B1	Y111	Y112	Y113	Y114	Y115	\bar{Y}_{ijk}	
C2B1	Y211	Y212	Y213	Y214	Y215		
C3B1	Y311	Y312	Y313	Y314	Y315		
C4B1	Y411	Y412	Y413	Y414	Y415		
C1B2	Y121	Y122	Y123	Y124	Y125		
C2B2	Y221	Y222	Y223	Y224	Y225		
C3B2	Y321	Y322	Y323	Y324	Y325		
C4B2	Y421	Y422	Y423	Y424	Y425		
C1: con cuchillo, C2: con rallador, C3: a mano, C4: con máquina, B1: fresco, B2: deshidratado.							

Fuente: elaboración propia.

Donde:

Y_{ijk} : rendimiento de aceite esencial para cada corrida, según el tratamiento

\bar{Y}_{ijk} : rendimiento promedio de aceite esencial, según el tratamiento

i: tipo de corte

j: porcentaje de humedad

k: número de repeticiones

3.6.4. Aleatorización

Con el arreglo en bloques propuesto para los tratamientos se procedió a la selección aleatoria de las columnas correspondientes al número de corrida para cada tratamiento, seleccionada la columna de igual forma, se escogió el número de tratamiento al azar.

3.6.5. Variable de respuesta

La variable de respuesta corresponde al rendimiento de aceite esencial del flavelo de naranja por destilación con arrastre de vapor a nivel laboratorio, en función del tipo de corte, el contenido de humedad y número de repetición del análisis experimental.

3.7. Plan de análisis de los resultados

Posterior al proceso de extracción se obtuvieron valores medios para la variable de salida en función del tipo de corte y porcentaje de humedad del flavelo, a partir de estos valores se realizó el análisis de los resultados aplicando el análisis de varianza, como se muestra en la tabla VI.

Tabla VI. Rendimiento promedio de aceite esencial por destilación con arrastre de vapor

Corte Humedad	B1	B2	Media
C1	Y_{11}	Y_{12}	YC1
C2	Y_{21}	Y_{22}	YC2
C3	Y_{31}	Y_{32}	YC3
C4	Y_{41}	Y_{42}	YC4
Media	YB1	YB2	

C1: con cuchillo, C2: con rallador, C3: a mano, C4: con máquina, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

Los valores medios en la última columna YC1, YC2, YC3, YC4, de la tabla VI, corresponden a los valores de rendimiento de aceite esencial respecto el tipo de corte, y los valores medios correspondientes a la última fila YB1, YB2 refieren al rendimiento de aceite esencial en función del contenido de humedad del flavelo del fruto.

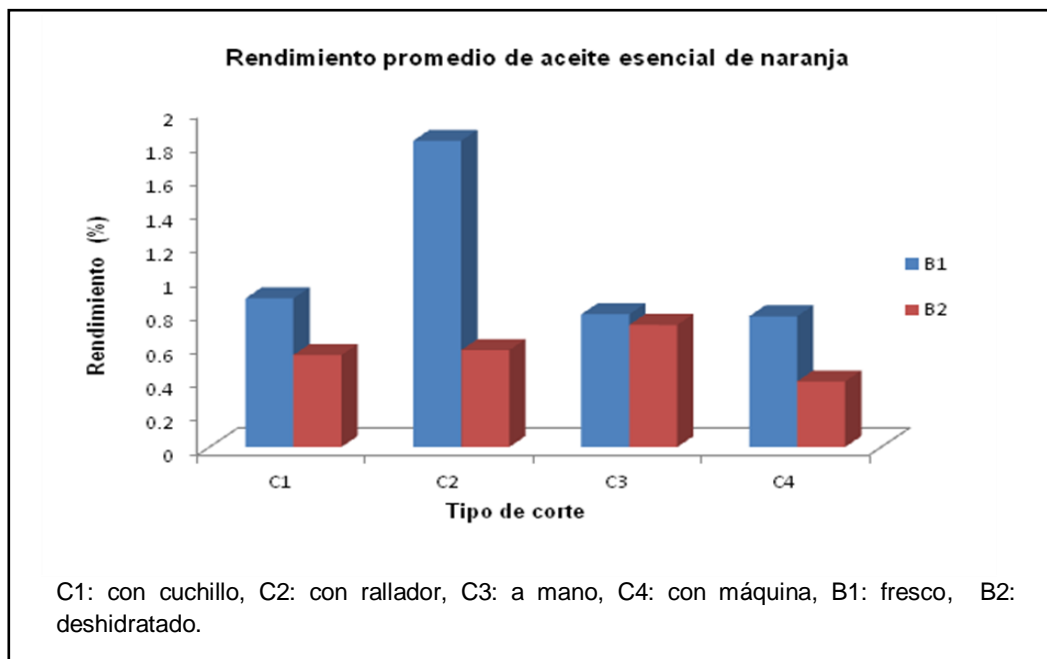
A los valores anteriores se les aplicó el análisis de varianza y por medio de este análisis se aceptó, tanto la hipótesis alternativa como la hipótesis de trabajo, debido a que partiendo de la aplicación del método del supuesto absurdo la probabilidad obtenida en cada uno de los factores fue menor al 5% esto conllevó al rechazo de la hipótesis nula, debido a que un fenómeno con baja probabilidad de ocurrencia estadísticamente es considerado falso.

La aplicación del criterio estadístico de Tukey HDS, para la comparación de medias del porcentaje de rendimiento mostró que el tipo de corte que proporciona mayor rendimiento es con rallador y la materia prima fresca favorece el rendimiento de aceite esencial de naranja.

4. RESULTADOS

Los presentes datos corresponden al análisis de varianza y criterio de Tukey HSD, aplicado a los rendimientos de aceite esencial de los tratamientos propuestos. Las muestras de aceite esencial fueron caracterizadas fisicoquímicamente determinando densidad, índice de refracción, porcentaje de abundancia de terpenos y frentes de referencia de los principales componentes: limoneno, mirceno y linalool.

Figura 15. **Rendimiento de aceite esencial de naranja respecto el tipo de corte y contenido de humedad**



Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Análisis de varianza para el rendimiento de aceite esencial**

Variable	Varianza
Corrida	0,09835
Corte	0,71198
Estado	2,57726
Corte*Estado	0,65237
Error	0,05758

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Comparación de rendimiento de aceite esencial respecto el tipo de corte por el criterio de Tukey HSD**

Corte	Rendimiento medio	Grupos homogéneos
Rallador	1,198	A
Mano	0,757	B
Cuchillo	0,715	B
Máquina	0,583	B

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Comparación del rendimiento de aceite esencial respecto el contenido de humedad del flavelo por el criterio de Tukey HSD**

% Humedad	Rendimiento medio	Grupos homogéneos
Fresco	1,0672	A
Deshidratado	0,5596	B

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Comparación del rendimiento de aceite esencial respecto el tipo de corte y contenido de humedad del flavelo por el criterio de Tukey HSD**

Corte	% Humedad	Rendimiento medio	Grupos homogéneos
Rallador	Fresco	1,8198	A
Cuchillo		0,8836	B
Mano		0,7885	B
Máquina		0,7771	B
Mano	Deshidratado	0,7255	B
Rallador		0,5763	B
Cuchillo		0,5465	B
Máquina		0,3901	B

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Densidad del aceite esencial de naranja a 25 °C**

% Humedad	Densidad (g/mL)				
	Tipo de corte				
	C1	C2	C3	C4	Media
Fresco	0,8440	0,8403	0,8514	0,8488	0,8462
Deshidratado	0,8575	0,8424	0,8406	0,8542	0,8487
C1: con cuchillo, C2: con rallador, C3: a mano, C4: con máquina					

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Índice de refracción del aceite esencial de naranja**

% Humedad	Índice de refracción				
	Tipo de corte				
	C1	C2	C3	C4	Media
Fresco	1,474	1,473	1,474	1,472	1,473
Deshidratado	1,474	1,474	1,473	1,474	1,473
C1: con cuchillo, C2: con rallador, C3: a mano, C4: con máquina					

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Rf de los componentes de aceite esencial de naranja por cromatografía de capa fina**

Componente	C1B1	C2B1	C3B1	C4B1	C1B2	C2B2	C3B2	C4B2	Media
Limoneno	0,362	0,376	0,376	0,362	0,362	0,391	0,376	0,391	0,375
Mirceno	0,928	0,942	0,913	0,913	0,928	0,913	0,928	0,928	0,924
L-linalool	0,536	0,522	0,522	0,522	0,522	0,536	0,536	0,522	0,527

C1: con cuchillo, C2: con rallador, C3: a mano, C4: con máquina, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C1B1**

No.	Componente	% Área
1	Mirceno	3,28
2	Limoneno	91,85
3	L-linalool	1,44
4	Trans- cariofileno	0,45
5	Neallocimeno	0,44
6	Colesterol	2,54

C1: corte con cuchillo, B1: fresco

Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C2B1**

No.	Componente	% Área
1	α -pineno	0,99
2	Mirceno	4,58
3	Limoneno	89,33
4	L-linalool	2,76
5	α -terpineol	0,69
6	2,6, z citral	0,55
7	L-carvona	0,51
C2: corte con rallador, B1: fresco.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C3B1**

No.	Componente	% Área
1	Mirceno	3,12
2	Limoneno	95,23
3	L-linalool	1,27
C3: corte a mano B1: fresco.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C4B1**

No.	Componente	% Área
1	α -pineno	1,18
2	Mirceno	4,8
3	Limoneno	90,71
4	L-linalool	2,68
5	α -terpineol	0,62
C4: corte con máquina, B1: fresco.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C1B2**

No.	Componente	% Área
1	Limoneno	94,33
2	Linalool	2,99
3	1,3 difenil 1,3,5,5 tetrametilcarbono	2,69
C1: corte con cuchillo, B2: deshidratado.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C2B2**

No.	Componente	% Área
1	Mirceno	3,51
2	n-octanal	0,88
3	Limoneno	85,59
4	1-octanol	0,68
5	Linalool	5,57
6	Terpinen-4-ol	0,41
7	1- α terpineol	1,41
C2: corte con rallador, B2: deshidratado.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XX. **Componentes del aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C3B2**

No.	Componente	% Área
1	Mirceno	1,75
2	Limoneno	95,81
3	L-linalool	2,44
C3: corte a mano, B2: deshidratado.		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXI. **Componentes el aceite esencial de naranja obtenido en el tratamiento C4B2**

No.	Componente	% Área
1	Mirceno	3,55
2	Limoneno	93,2
3	L-linalool	2,6
4	α -terpineol	0,65
C4: corte con máquina B2: deshidratado.		

Fuente: elaboración propia.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con los rendimientos obtenidos se realizaron analogías con estudios previos sobre aceite esencial de naranja Valencia, como el realizado en la Universidad de Pamplona, Colombia y la recopilación de propiedades fisicoquímicas de en un estudio en México plasmado en la norma NMX-F-063-1978. Debido que las condiciones tienen variantes en cada uno de los procesos, los datos del presente estudio enriquecen el conocimiento sobre el aceite esencial de naranja, al proporcionar información puntual sobre el corte realizado y el porcentaje de humedad del flavelo que favorece el rendimiento de aceite esencial de naranja.

Previo al proceso de extracción, el fruto recolectado se lavó con jabón y abundante agua para eliminar agentes contaminantes del flavelo. Para realizar el proceso de extracción por destilación con arrastre de vapor se empleó la unidad neoclevenger; donde 50 gramos de materia prima en contacto con agua se colocaron en un sistema de calentamiento directo, el aceite esencial con el agua presente se evaporó continuamente durante un período de 2 horas, o hasta que se detuvo la condensación.

El condensador acoplado al balón y la conexión en forma de D, permitieron acumular y separar el aceite esencial de la mezcla condensada. El agua floral condensada regresó al balón por el rebose de la conexión, como se muestra en la figura 1. El aceite esencial se obtuvo por decantación, y empleando una jeringa se extrajo el residuo de aceite de la unidad, para evitar pérdidas.

El procedimiento de extracción fue el mismo para cada tratamiento y las extracciones se realizaron de manera aleatoria, hasta completar las cuarenta repeticiones propuestas.

La matriz de estudio correspondió a la determinación y comparación del rendimiento de aceite esencial de naranja, empleando cuatro tipos diferentes de corte:

- Con cuchillo: un tamaño de partícula aproximado a 1 cm de ancho por 5 cm de largo, cortando el flavelo directamente de la superficie del fruto.
- A mano: donde el exocarpo se retiró del fruto sin emplear ningún instrumento, éste se homogenizó en segmentos de tamaño aproximado a un centímetro.
- Con rallador de cocina: este utensilio permitió obtener el menor tamaño de partícula y empleando un tamiz número cinco se homogenizó el tamaño del flavelo.
- Con máquina cortadora de frutos cítricos: una técnica muy empleada por personas que trabajan en la venta del fruto y su jugo. Este utensilio permitió retirar el flavelo con la menor cantidad de alvelo posible. El tamaño del flavelo con este corte fue de 0,5 cm aproximado de ancho, para ser colocados en el recipiente de extracción en segmentos de 5 centímetros de largo.

El estado de la materia prima correspondió a dos variantes: fresco; atribuido a un porcentaje de humedad mayor al 60% determinado con la balanza de humedad donde el flavelo no sobre pasó los 8 días de corte del fruto y deshidratado; con humedad menor al 12%. Experimentalmente la humedad del exocarpo fresco estuvo dentro del rango de 60,92 y 71,23%. La deshidratación del exocarpo se realizó en un sacador eléctrico de bandejas con flujo transversal, obteniendo valores entre 5,37 y 11,96% de humedad. La combinación de cada una de estas variantes corte y humedad, fueron representados en ocho tratamientos de estudio, realizando para cada uno de ellos cinco extracciones.

Según la figura 6, el rendimiento de aceite esencial en función del tipo de corte y porcentaje de humedad se encuentra entre 0,3901 y 1,8198%, donde la media más alta se observa para el tipo de corte con rallador y flavelo fresco. A partir del análisis de varianzas de los rendimientos, se obtuvo una probabilidad menor del 5% de ocurrencia por el método estadístico de suposición de absurdos, lo que conllevó a un rechazo de la hipótesis nula previamente establecida, dando lugar a la aceptación de la hipótesis alternativa que señala que el rendimiento de aceite esencial del flavelo de naranja sí se ve significativamente afectado por el tipo de corte y porcentaje de humedad.

De acuerdo a la tabla VIII, las medias del rendimiento de aceite según el tipo de corte, el análisis identificó como grupo A, al corte con rallador con el mayor valor, mientras que en los demás tipos de corte correspondientes al grupo B, las medias no son significativamente diferentes entre ellas.

La tabla IX muestra el criterio de Tukey para los rendimientos respecto el contenido de humedad de la materia prima, donde el grupo A es significativamente mayor al grupo B, correspondiente a la materia prima en estado fresco.

La comparación de la combinación de las variables corte y humedad por el criterio de Tukey se presenta en la tabla X, donde el grupo principal A, con la media más alta está representado por las extracciones de aceite esencial realizadas al emplear flavelo rallado fresco. Las medias de los tratamientos del grupo B con cortes a mano, con cuchillo y con máquina, ya sea en estado fresco o deshidratado, no sobrepasaron los rendimientos de aceite esencial del grupo A con valores entre 0,39 y 0,88%.

Los rendimientos medios de aceite esencial por el método de destilación por arrastre de vapor de agua convencional, con valores entre 0,3901 y 1,8198% superaron los rendimientos del aceite esencial en el estudio realizado en la Universidad de Pamplona, a partir del fruto cultivado en Labateca, al norte de Santander, Colombia, obtenido por hidrodestilación asistida con microondas con rendimientos entre 0,18 y 0,20%. Dando un valor significativo al fruto cultivado en la región de Baja Verapaz, Guatemala.

El secado o deshidratación de alimentos tiene como objetivo preservar a los mismos libres de microorganismos y evitar así su descomposición. La deshidratación de la materia prima permitió la eliminación de las moléculas de agua en el flavelo por efectos de capilaridad y la pérdida de aceite esencial, debido a que el exocarpo o flavelo presenta vesículas que contienen aceites esenciales, los cuales son volátiles y con el incremento de temperatura entre 50 y 60 °C, durante el período de tres horas de secado hubo pérdida del contenido de aceite esencial dando como resultado rendimientos con medias menores como se observó en la tabla XI.

El aceite esencial fue caracterizado midiéndole densidad e índice de refracción. La densidad del aceite a 25 °C, de acuerdo con el rango reportado en la normativa mexicana NMX-F-063-1978 es de 0,85 g/mL para aceite esencial de naranja dulce centrifugado. En la tabla XI se presentan densidades en el rango de 0,840-0,857 g/mL a la misma temperatura, los valores obtenidos son cercanos a los propuestos en la norma. Se observó que la densidad del aceite esencial es menor que la del agua, característica responsable de hacer posible la separación del aceite del agua al final del proceso de destilación, donde los valores obtenidos se encuentran en rangos aceptables, de acuerdo con el dato propuesto por la norma, a pesar de diferir en el método de extracción empleado.

De acuerdo con la normativa NMX-F-063-1978 los aceites esenciales presentan valores de índice de refracción elevados y para el caso del aceite esencial de naranja centrifugado es de 1,47 a 20 °C. Según la tabla XII, el aceite esencial de naranja presentó valores entre 1,472-1,474 a 15 °C, valores cercanos a la referencia. La medición de esta propiedad se utiliza como prueba fisicoquímica para el control de pureza de aceites esenciales de diversa naturaleza.

Cualitativamente la presencia de limoneno, mirceno y linalool se determinó por medio de cromatografía de capa fina con valores de Rf promedio de 0,375, 0,924 y 0,527 respectivamente. Los valores de Rf o frente de referencia corresponden a la relación entre la distancia recorrida por el componente respecto a la distancia recorrida por la fase móvil compuesta por tolueno y acetato de etilo en una relación 93:7.

El limoneno se retuvo a los 2,7 cm. Mientras que el mirceno y linalool a los 6,5 y 3,8 cm respectivamente. Debido al carácter polar de la fase estacionaria y el eluyente o fase móvil ligeramente polar, el linalool se desplazó mayor distancia, por ser menos polar que el mirceno y que el limoneno.

Los análisis realizados por cromatografía gaseosa con acoplamiento de espectrometría de masas (GC-MS), mostraron para los ocho tratamientos que el componente más abundante corresponde al limoneno, identificado a los 8,14 minutos de tiempo de retención en la columna, con un porcentaje de abundancia medio del 92%. Mientras el aceite de naranja de Labateca, Colombia, presentó limoneno en un 90,93% identificado por cromatografía de gases de alta resolución con detector FID (CGAR-FID).

El limoneno corresponde a una especie de los terpenos, encargada de proporcionar el olor característico a los cítricos; además, este componente posee un centro quiral, por lo que puede estar presente como d-limoneno y l-limoneno, siendo el primero el más abundante en el aceite esencial obtenido, responsable del olor característico del cítrico. Otros compuestos presentes en menor abundancia correspondieron al mirceno y linalool, con abundancia del 3,51 y 2,72%.

El perfil de la composición de las especies de terpenos por cromatografía de gases (CG-MS) certifican que la extracción del aceite esencial de naranja dulce proveniente de Santa Cruz El Chol, es rico en limoneno, con una calidad aceptable para aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria o en la síntesis de compuestos derivados del limoneno, en reacciones de adición por oxidación anódica con soluciones de ácido acético con carbonato de litio a temperatura ambiente, dando como resultado la formación de α -terpineol un compuesto más fragante, esto como consecuencia de la alta pureza del limoneno.

CONCLUSIONES

1. El mayor rendimiento de aceite esencial de naranja se obtuvo del flavelo fresco rallado con un valor de 1,8198%.
2. El tipo de corte con rallador para materia prima fresca y deshidratada presentó el rendimiento medio más alto de 1,1980%.
3. El tipo de corte que presentó menor rendimiento de aceite esencial fue con máquina cortadora de frutos cítricos, con 0,5836%.
4. Entre el flavelo cortado a mano o con cuchillo no existe diferencia significativa en el rendimiento de aceite esencial de naranja, con rendimientos de 0,757 y 0,7150%.
5. El estado fresco de la materia prima representó el mayor rendimiento de aceite esencial, con un valor de 1,0672%.
6. La extracción de aceite esencial con materia prima deshidratada representa una disminución del rendimiento de aceite esencial en un 46,56% respecto al rendimiento empleando materia prima fresca.
7. El menor rendimiento de aceite esencial de naranja se obtuvo para el flavelo deshidratado cortado con máquina, con 0,3901%.

8. La densidad media del aceite esencial de naranja 0,8487 g/mL, se encuentra dentro del rango propuesto por la Norma mexicana NMX-F-063-1978, para aceite esencial de naranja a 25 °C.
9. El índice de refracción medio de aceite esencial de naranja con valor de 1,474 se encuentra dentro del rango propuesto por la Norma mexicana NMX-F-063-1978.
10. El componente mayoritario presente en el aceite esencial para los cuatro tipos de corte en estado fresco y deshidratado fue el monoterpeno limoneno.
11. Por medio de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS), se identificó el limoneno como especie más abundante en el esencial de naranja, con una media del 92%.
12. Por medio de cromatografía de capa fina se verificó cualitativamente la presencia de limoneno, mirceno, y linalool en el aceite esencial de naranja obtenido en cada tratamiento.
13. Por cromatografía de capa fina se determinó que el limoneno; componente más abundante en el aceite esencial de naranja, es más polar que el mirceno y linalool.

RECOMENDACIONES

1. Emplear el método de expresión para la obtención de aceite esencial del flavelo de naranja dulce, para fines comparativos con el rendimiento por destilación con arrastre de vapor y determinar el costo del aceite esencial de alta pureza en el mercado.
2. Además de la caracterización fisicoquímica, realizar estudios para determinar las propiedades termodinámicas del aceite esencial, como coeficientes de actividad y fugacidad, presión de vapor y propiedades parciales molares.
3. Realizar un estudio del rendimiento de aceite esencial empleando los cuatro diferentes tipos de corte del exocarpo de naranja en estado fresco y deshidratado a nivel planta piloto.
4. Obtener y evaluar el rendimiento de aceite esencial del flavelo de naranja empleando otras variedades cultivadas en Guatemala.
5. Promover un estudio de factibilidad económica de la extracción de aceite esencial de naranja a nivel industrial.
6. Realizar un estudio sobre la viabilidad de síntesis de compuestos fragantes, como alcoholes terpénicos, a partir de la oxidación anódica del aceite esencial de naranja obtenido con un 92% de pureza de limoneno.

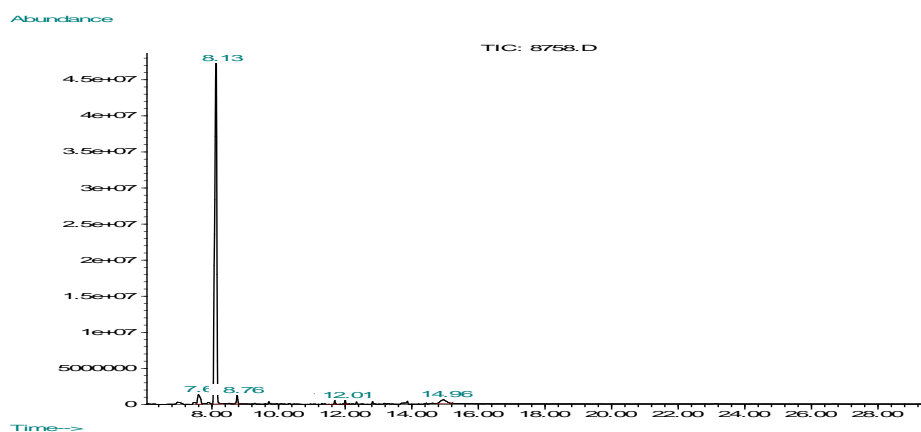
BIBLIOGRAFÍA

1. Centro de Comercio Internacional. *Aceites esenciales y oleorresinas*. Estudio de distintos productores y mercados importantes. Suiza: CII, 1986. 89 p.
2. El cultivo de las naranjas [en línea], Primera parte. Disponible en Web <<http://www.infoagro.com/citricos/naranja.htm>> [Consulta: 16 de mayo de 2010]
3. FINNEMORE, Horace. *The essential oils*. Estados Unidos: D. Van Nostrand, 1926. p. 17-19, 28-30.
4. GEANKOPLIS, Christie J. *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. México: Continental, 1998. p. 579-581.
5. GROSSE, R., et al. *Extracción del aceite esencial de naranja cajera citrus*. Caracas: Acta Certificada Venezolana, vol. 51 suplemento No. 2, 2000. 77 p.
6. KRUSTER, H. *Importancia de los aceites esenciales y sus perspectivas para el futuro*. México: Dragoco Report, 1971. 379 p.
7. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. *Ruralidad dimensión privilegiada del desarrollo*. Unidad de Políticas e Información Estratégica. Guatemala: MAGA, 2009. p. 98-102.

8. Programa de Diversificación de Ingresos en la Empresa Cafetalera. *Cultivo de naranja*. Asociación Nacional del Café. Guatemala: ANACAFE, 2004. 69 p.
9. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial Norma mexicana NMX-F-063- 1978 [en línea] México, 1978, p. 2. Disponible en Web <<http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMXF0631978.PDF3> [Consulta: 27 de octubre de 2010]
10. SHARAPIN, Nikolai. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2000, p. 17-25, 28-29, 101-104, 150-151, 179-183, 184-186, 247.
11. THEIMER, Ernest T. *Fragrance Chemistry: The science of the sense of smell*. Nueva Jersey, Estados Unidos: Academic Press, 1982. p. 181-189.
12. YAÑEZ RUEDA, X.; LUGO MANCILLA, L. L.; PARADA PARADA, D.Y. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca, (norte de Santander, Colombia) [en línea]. Universidad de Pamplona, Departamento de Biología y Química, Grupo de Investigación en Productos Verdes Colombia, 2006. Disponible en Web <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/903/903_50101.pdf> ISSN 0120-4211. Bistua: revista de la Facultad de Ciencias Básicas, año/vol. 5, número 001, p. 3-8. [Consulta: 1 de junio de 2010].

APÉNDICE A

Figura 16. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con cuchillo**



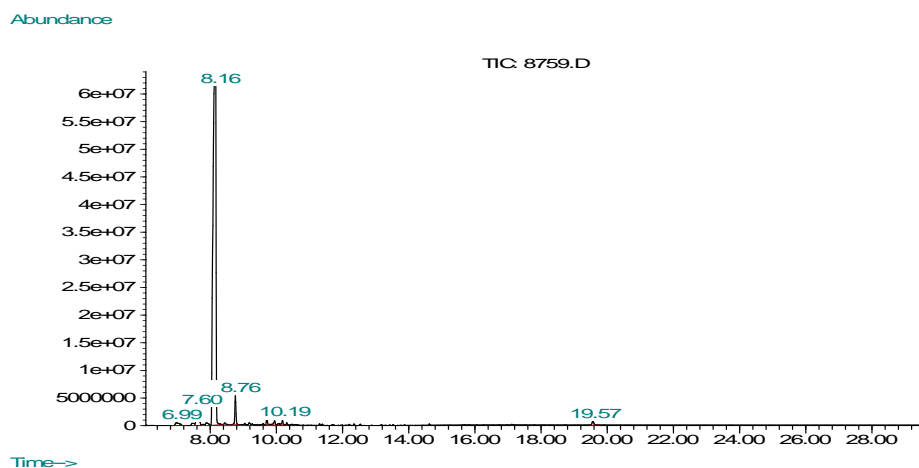
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial del flavelo fresco cortado con cuchillo

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Mirceno	7,6	3,28
2	Limoneno	8,13	91,85
3	L-linalool	8,77	1,44
4	Trans- cariofileno	11,69	0,45
5	Neallocimeno	12,01	0,44

Fuente: elaboración propia.

Figura 17. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con rallador**



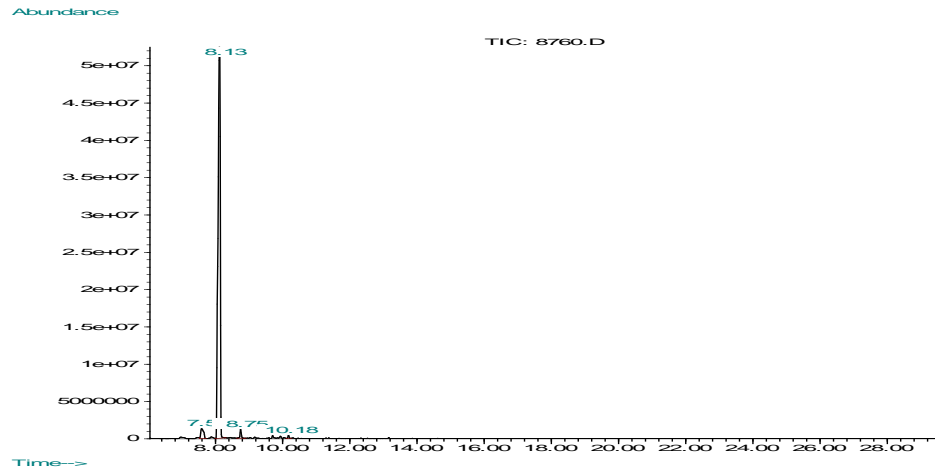
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con rallador

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	α -pineno	6,98	0,99
2	Mirceno	7,6	4,58
3	Limoneno	8,16	89,33
4	L-linalool	8,76	2,76
5	α -terpineol	9,71	0,69
6	2,6, Z-citral	9,95	0,55
7	L-carvona	10,18	0,51

Fuente: elaboración propia.

Figura 18. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado a mano**



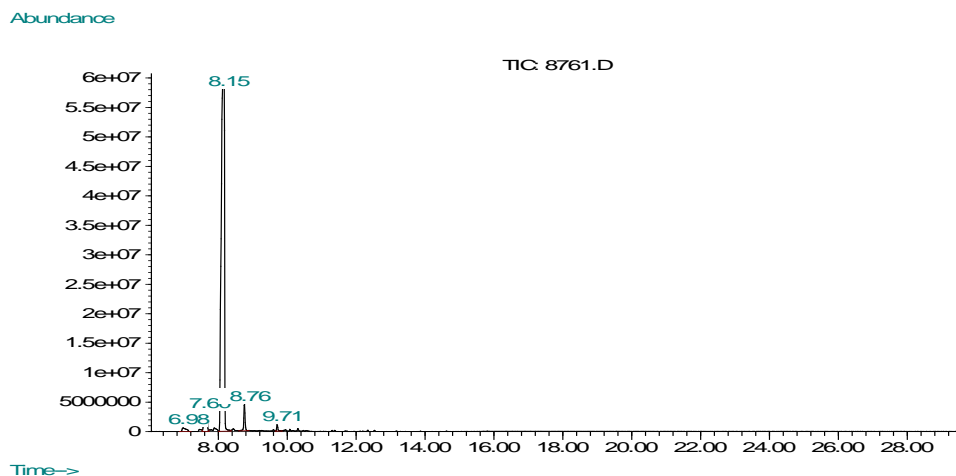
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado a mano

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Mirceno	7,59	3,12
2	Limoneno	8,13	95,23
3	L-linalool	8,75	1,27
4	Carvona	10,18	0,38

Fuente: elaboración propia.

Figura 19. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con máquina de frutos cítricos.**



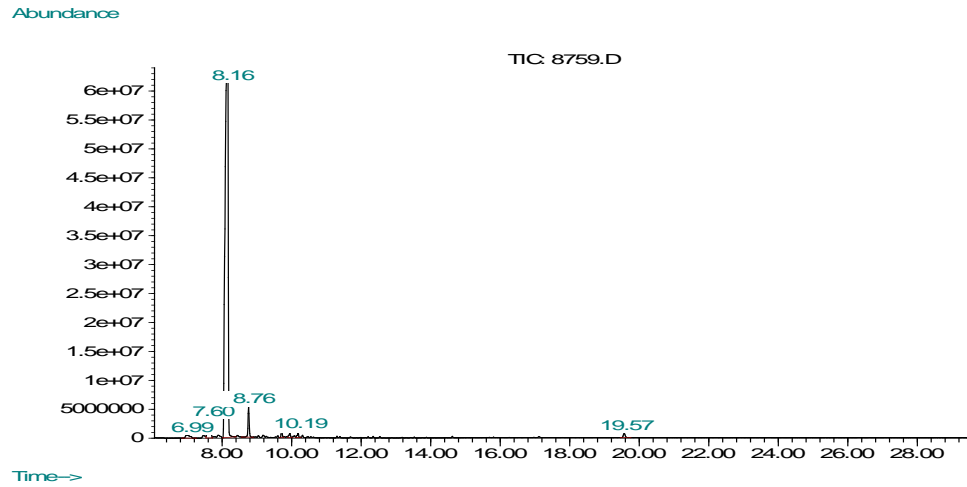
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo fresco cortado con máquina de frutos cítricos

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	α -pineno	6,98	1,18
2	Mirceno	7,6	4,8
3	Limoneno	8,16	90,71
4	L-linalool	8,76	2,68
5	α -terpineol	9,71	0,62

Fuente: elaboración propia.

Figura 20. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con cuchillo**



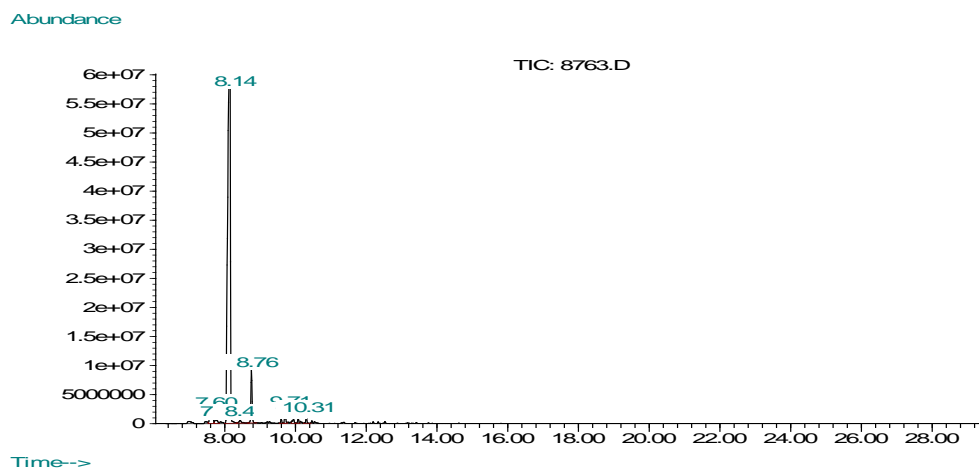
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con cuchillo

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Limoneno	8,09	94,33
2	Linalool	8,76	2,99
3	1,3 difenil 1,3,5,5 tetrametilcarbono	13,88	2,69

Fuente: elaboración propia.

Figura 21. **Cromatograma el aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con rallador**



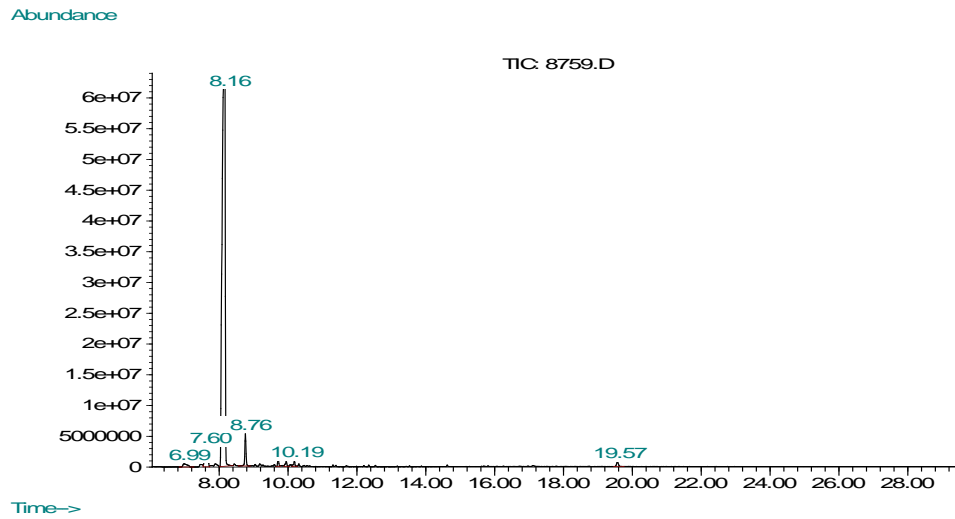
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con rallador

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Mirceno	7,6	3,51
2	n-octanal	7,75	0,88
3	Limoneno	8,14	85,59
4	1-octanol	8,44	0,68
5	Linalool	8,75	5,57
7	1- α terpineol	9,71	1,41
9	E-citral	10,31	0,73

Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado a mano**



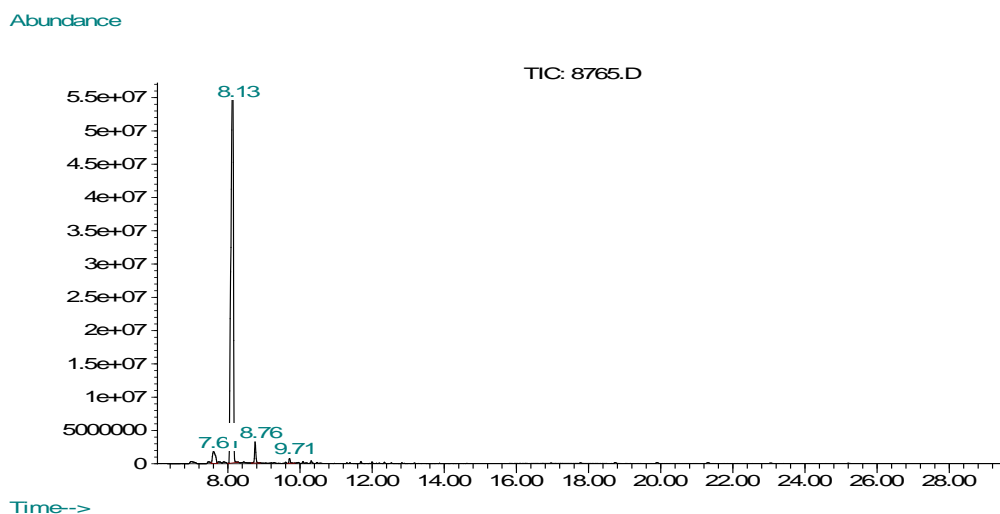
Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado a mano

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Mirceno	7,61	1,75
2	Limoneno	8,09	95,81
3	L-linalool	8,76	2,44

Fuente: elaboración propia.

Figura 23. **Cromatograma del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con máquina de frutos cítricos**



Fuente: elaboración propia.

Componentes del aceite esencial obtenido del flavelo deshidratado cortado con máquina de frutos cítricos

No.	Componente	Tiempo de retención (min.)	% Área
1	Mirceno	7,6	3,55
2	Limoneno	8,14	93,2
3	L-linalool	8,76	2,6
4	α -terpineol	9,72	0,65

Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE B

Peso del flavelo de naranja previo a la extracción por arrastre con vapor para cada tratamiento

Peso de la materia prima (g)						
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5	Media
C1B1	50,078	50,014	50,012	50,054	50,110	50,053
C2B1	50,001	50,037	50,089	50,113	50,035	50,055
C3B1	50,007	50,016	50,041	50,023	58,055	51,629
C4B1	50,015	50,098	50,062	50,142	50,060	50,075
C1B2	50,087	50,129	50,147	50,113	50,064	50,108
C2B2	50,067	50,012	50,015	50,018	50,061	50,035
C3B2	50,090	50,013	50,065	50,030	50,013	50,042
C4B2	50,058	50,109	50,110	50,032	50,071	50,076
Media	50,050	50,053	50,067	50,066	51,059	
C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.						

Fuente: elaboración propia.

Porcentaje de humedad del flavelo de naranja para cada tratamiento de estudio

Humedad del flavelo (%)						
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5	Media
C1B1	70,29	68,87	60,92	60,92	69,94	66,188
C2B1	70,32	69,94	67,95	67,95	68,78	68,988
C3B1	68,35	68,35	70,32	64,16	64,1	67,056
C4B1	71,23	70,99	71,23	70,99	70,99	71,086
C1B2	10,19	11,53	11,85	10,56	11,76	11,178
C2B2	5,69	6,27	7,96	6,53	5,37	6,364
C3B2	11,36	11,96	11,07	10,21	10,19	10,958
C4B2	11,32	11,05	10,25	11,25	10,23	10,820
C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.						

Fuente: elaboración propia.

Peso de viales vacíos previo al almacenaje de aceite esencial de naranja para cada tratamiento

Peso de viales vacíos (g)					
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5
C1B1	4,4134	4,4146	4,4286	4,4376	4,436
C2B1	4,4106	4,4379	4,4233	4,4169	4,445
C3B1	4,4267	4,4185	4,4246	4,4585	4,4452
C4B1	13,4606	13,7754	13,8054	13,6431	13,5818
C1B2	8,7228	13,5743	12,5508	12,5092	13,892
C2B2	12,6576	12,5954	12,5715	12,5311	12,5430
C3B2	13,5559	12,5619	12,5552	12,5568	12,6013
C4B2	13,4620	12,6572	13,5818	12,6069	12,647
C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.					

Fuente: elaboración propia.

Peso de aceite esencial en el respectivo vial para cada tratamiento de estudio

Peso aceite esencial más vial (g)					
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5
C1B1	5,2029	5,132	4,6351	4,6703	4,7011
C2B1	5,2752	5,263	5,2972	5,4008	5,452
C3B1	4,8257	4,8365	4,7557	4,7879	5,0192
C4B1	13,803	14,3054	14,1289	14,0069	13,968
C1B2	8,9936	13,795	12,7349	12,8255	14,269
C2B2	13,0033	12,9097	12,7365	12,7452	12,9457
C3B2	13,6212	12,8398	12,9803	12,9603	12,9449
C4B2	13,6495	12,8743	13,6634	12,7741	12,9682
C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.					

Fuente: elaboración propia.

Peso de aceite esencial real para cada tratamiento

Peso Aceite esencial (g)						
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5	Media
C1B1	0,7895	0,7174	0,2065	0,2327	0,2651	0,4422
C2B1	0,8646	0,8251	0,8739	0,9839	1,007	0,9109
C3B1	0,399	0,418	0,3311	0,3294	0,574	0,4103
C4B1	0,3424	0,5301	0,3235	0,3638	0,3862	0,3892
C1B2	0,2708	0,2207	0,1841	0,3163	0,377	0,2738
C2B2	0,3457	0,3143	0,165	0,2141	0,4027	0,2884
C3B2	0,0653	0,2779	0,4251	0,4035	0,3436	0,3031
C4B2	0,1895	0,2171	0,0816	0,1672	0,3212	0,1953
Media	0,4083	0,4401	0,3239	0,3763	0,4596	
C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.						

Fuente: elaboración propia.

Rendimiento de aceite esencial para cada tratamiento de estudio

Rendimiento de aceite esencial de naranja (%)						
Tratamiento/Repetición	1	2	3	4	5	Media
C1B1	1,5765	1,4344	0,4129	0,4649	0,5290	0,8836
C2B1	1,7292	1,6490	1,7447	1,9634	2,0126	1,8198
C3B1	0,7979	0,8357	0,6617	0,6585	0,9887	0,7885
C4B1	0,6846	1,0579	0,6462	0,7255	0,7715	0,7771
C1B2	0,5407	0,4403	0,3671	0,6312	0,7530	0,5465
C2B2	0,6905	0,6284	0,3299	0,4280	0,8044	0,5763
C3B2	0,1304	0,5557	0,8491	0,8065	0,6870	0,6057
C4B2	0,3786	0,4333	0,1628	0,3342	0,6415	0,3901
Media	0,8160	0,8793	0,6468	0,7515	0,8985	

C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

Densidad del aceite esencial para cada tratamiento de estudio

Densidad (g/mL)	
C1B1	0,8440
C2B1	0,8403
C3B1	0,8514
C4B1	0,8488
C1B2	0,8575
C2B2	0,8424
C3B2	0,8406
C4B2	0,8542
Media	0,8474

C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado

Fuente: elaboración propia.

Índice de refracción del aceite esencial de naranja

IR	
C1B1	1,474
C2B1	1,473
C3B1	1,474
C4B1	1,472
C1B2	1,474
C2B2	1,474
C3B2	1,473
C4B2	1,474
Media	1,474

C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

Potencial de hidrógeno a 25 °C del aceite esencial de naranja

pH	
C1B1	6,78
C2B1	7,16
C3B1	6,42
C4B1	6,70
C1B2	7,12
C2B2	6,36
C3B2	6,89
C4B2	7,04
Media	6,81

C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

Rf de compontes presentes en el aceite esencial de naranja analizado por cromatografía de capa fina.

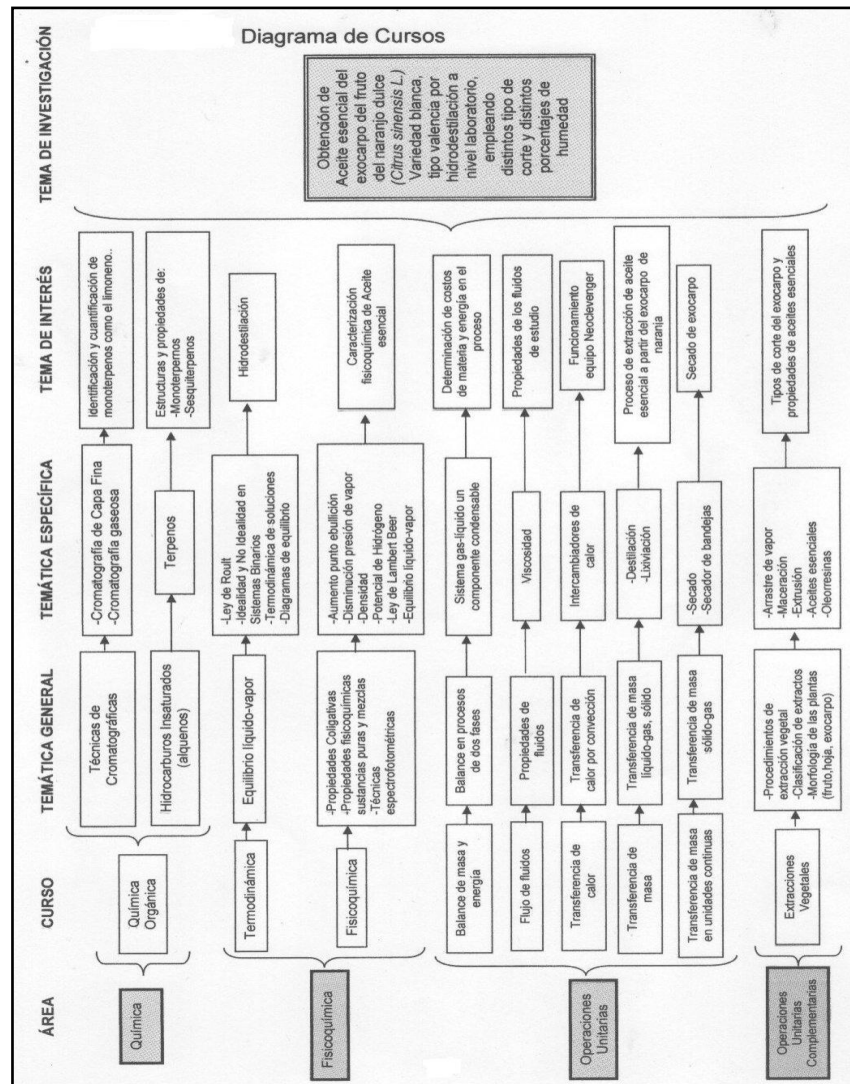
Tratamiento	C1B1	C2B1	C3B1	C4B1	C1B2	C2B2	C3B2	C4B2	Media
Limoneno	0,362	0,376	0,376	0,362	0,362	0,391	0,376	0,391	0,375
Mirceno	0,928	0,942	0,913	0,913	0,928	0,913	0,928	0,928	0,924
L-linalool	0,536	0,522	0,522	0,522	0,522	0,536	0,536	0,522	0,527

C1: con cuchillo, C2: con rallador de frutas, C3: a mano, C4: con máquina cortadora de frutos cítricos, B1: fresco, B2: deshidratado.

Fuente: elaboración propia.

ANEXO

Figura 24. Cuadro de requisitos académicos



Fuente: elaboración propia.

