

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**«APLICACIÓN DE ULTRASONIDO COMO PRETRATAMIENTO EN  
LA EXTRACCIÓN POR MICROONDAS DE ACEITE ESENCIAL DE  
CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis* L. Osbeck)»**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA EN INDUSTRIAS  
ALIMENTARIAS**

**SOLANGE HORTENCIA FIGUEROA FERNÁNDEZ**

**LIMA-PERÚ**

**2022**


























---

**La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación  
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**12.1%**Resultados del Análisis de los plagios del 2021-04-28 11:29 PET  
TESIS SOLANGE FIGUEROA FERNANDEZ- 28.04.docx

Fecha: 2021-04-28 11:20 PET

\* Todas las fuentes 100 | Fuentes de internet 21 | Archivo de la organización 75

- 
- [5]  "TESIS FINAL MILAGROS GC.docx" fechado del 2020-08-13  
**5.7%** 55 resultados
- 
- [6]  "TESIS FINAL MILAGROS G.docx" fechado del 2020-08-08  
**5.6%** 53 resultados  
 1 documento con coincidencias exactas
- 
- [8]  "TESIS FINAL - MILAGROS GUILLÉN.pdf" fechado del 2020-07-27  
**5.3%** 49 resultados
- 
- [9]  "TESIS MILAGROS GUILLÉN.docx" fechado del 2020-08-13  
**4.1%** 40 resultados
- 
- [10]  "TESIS CLAUDIA PACHECO FERRER 2020.pdf" fechado del 2021-01-11  
**3.6%** 34 resultados
- 
- [11]  repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/430/F40-F7-T.pdf?sequence=3  
**2.2%** 18 resultados
- 
- [12]  es.slideshare.net/chahuíta/f40-f7t-1  
**2.0%** 16 resultados
- 
- [13]  "16 6 20 Artículo Eucalipto VF.docx" fechado del 2020-06-18  
**1.2%** 12 resultados
- 
- [14]  repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/407/1/Utilización de residuos de cáscara de naranja para la preparación de un desengrasante doméstico e in  
**0.9%** 13 resultados
- 
- [15]  "TESIS (Aceite de aguyamanto-Pedro Ugarte)- Actualizado.pdf" fechado del 2020-12-09  
**0.8%** 9 resultados
- 
- [16]  "EXT. AC ESEN MAND. JORGE PÉREZ GUERRERO.docx" fechado del 2018-12-08  
**0.6%** 8 resultados
- 
- [17]  "TESIS LIZ - FINAL (RESULTADOS Y DISCUSION).pdf" fechado del 2018-11-22  
**0.5%** 6 resultados
- 
- [18]  "Tesis Ashley Peña Abregú.pdf" fechado del 2020-07-20  
**0.4%** 7 resultados
- 
- [19]  "Artículo LICOPENOfalta cap antioxidante y comp fenolicos (1)- 27 mayo.docx" fechado del 2020-05-28  
**0.4%** 5 resultados
- 
- [20]  scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n2/pla07213.pdf  
**0.4%** 6 resultados
- 
- [21]  www.researchgate.net/publication/330211190\_Composicion\_quimica\_y\_actividad\_antimicrobiana\_del\_aceite\_esencial\_de\_Psidium\_guajava\_y\_Cymbopogon  
**0.5%** 4 resultados
- 
- [22]  "Tesis\_Marianela\_Inga\_corregida1002.docx" fechado del 2020-06-16  
**0.4%** 6 resultados
- 
- [23]  www.researchgate.net/publication/273476316\_Comparacion\_de\_la\_Hidro-destilacion\_Asistida\_por\_Radiacion\_de\_Microondas\_MWHD\_con\_Hidro-destil  
**0.3%** 3 resultados
- 
- [24]  finelab.berkeley.edu/file/25/download?token=E1lgwAFD  
**0.3%** 4 resultados
- 
- [25]  "TESIS\_LUCIANA OYARCE\_11.12.2020 (1).docx" fechado del 2021-01-16  
**0.3%** 6 resultados
- 
- [26]  "RESULTADOS Y DISCUSIÓN Sonia Miranda corregido.docx" fechado del 2020-09-06  
**0.3%** 8 resultados
- 
- [27]  "PLAGSCAN2cInfluencia de la hidrólisis y grasa en queso fresco\_ 2303.docx" fechado del 2021-03-24  
**0.3%** 7 resultados
- 
- [28]  "TESIS REVISION 03.docx" fechado del 2020-07-29  
**0.4%** 4 resultados
- 
- [29]  "TESIS- "DENSIDAD DE SIEMBRA EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE AJÍ ESCABECHE (Capsicum baccatum L. var. pendulum), EN CAÑ  
**0.3%** 5 resultados  
 1 documento con coincidencias exactas
- 
- [31]  "Artículo publicado en Anales Científicos.pdf" fechado del 2020-05-12  
**0.3%** 6 resultados

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**«APLICACIÓN DE ULTRASONIDO COMO PRETRATAMIENTO EN  
LA EXTRACCIÓN POR MICROONDAS DE ACEITE ESENCIAL DE  
CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis L. Osbeck*)»**

Presentado por:

**SOLANGE HORTENCIA FIGUEROA FERNÁNDEZ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA EN INDUSTRIAS  
ALIMENTARIAS**

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

---

Dra. Rosana S. Chirinos Gallardo  
PRESIDENTE

---

PhD. Ritva A.M. Repo de Carrasco  
MIEMBRO

---

Mg. Sc. Diana M. Nolazco Cama  
MIEMBRO

---

Mg. Sc. Beatriz A. Hatta Sakoda  
ASESORA

---

Mg. Sc. Lena Téllez Monzón  
CO-ASESORA

Lima-Perú

2022

## **DEDICATORIA**

La presente tesis va dedicada en primer lugar a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mi carrera profesional.

A mis padres, Victorino Figueroa y Teresa Fernández, por ser un apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria, quienes con su esfuerzo me han permitido llegar a cumplir todas mis metas como el culminar mi tesis.

Por último, a Daniel Dextre, quién me ha empujado a culminar una de las más importantes metas que me trace desde hace muchos años.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional Agraria la Moida, por los años de aprendizaje que me han ayudado a culminar con éxito la presente tesis.

A mi asesora de tesis la Mg. Sc. Beatriz Hatta, por brindarme la oportunidad de realizar la investigación, por el apoyo en el desarrollo de la parte experimental de la presente tesis y por darse el tiempo de revisar cada parte del presente documento para la mejora del mismo.

Al profesor Oscar Crisóstomo por su orientación y disposición en darme el apoyo que necesitaba para aprender el manejo del software

Por último, mi agradecimiento a toda mi familia y amigos que de una u otra manera me brindaron su colaboración y me dieron el empujón que necesitaba.

# ÍNDICE GENERAL

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>2</b>
2.1.	NARANJA.....	2
2.2.	ACEITE ESENCIAL .....	9
2.3.	ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA.....	14
2.4.	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CONVENCIONALES .....	18
2.5.	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN NO CONVENCIONALES.....	20
2.6.	DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL.....	24
<b>III.</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>27</b>
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	27
3.2.	MATERIA PRIMA.....	27
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS E INSTRUMENTOS Y REACTIVOS .....	27
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	28
3.5.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	29
3.6.	DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL .....	32
3.7.	CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	32
3.8.	CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.....	32
3.9.	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	33
3.10.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	34
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>36</b>
4.1.	EFFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO EN LA CANTIDAD DE ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO POR MICROONDAS.....	36
4.2.	MAXIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA Y TIEMPO DEL PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO Y SU EFECTO EN EL	

RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL OBTENIDO POR EXTRACCIÓN CON MICROONDAS .....	37
4.3. COMPARACIÓN ENTRE LAS EXTRACCIONES: POR MICROONDAS, HIDRODESTILACIÓN Y MICROONDAS CON PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO .....	46
4.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO–QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE NARANJA OBTENIDO POR LOS TRES MÉTODOS.....	49
4.5. ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL.....	51
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>57</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>65</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de naranja en toneladas por departamento en el año 2000 .....	4
Tabla 2. Producción de naranja en toneladas por departamento en el año 2018 .....	5
Tabla 3. Producción de naranja (2011 al 2018) .....	6
Tabla 4. Parámetros utilizados para el control de calidad de los aceites esenciales .....	13
Tabla 5. Características fisicoquímicas del aceite esencial de cáscara de naranja dulce, <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck.....	15
Tabla 6. Propiedades físicas y químicas del limoneno .....	15
Tabla 7. Identificación de los componentes del aceite esencial de cáscara de naranja dulce <i>Citrus sinensis</i> , de variedad Valenciana, cultivada en Labateca (Colombia) extraído por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO).....	17
Tabla 8. Variables independientes y sus niveles, empleando un DCC.....	33
Tabla 9. Tratamientos obtenidos aplicando el Diseño Central Compuesto (DCC).....	34
Tabla 10. Esquema experimental.....	35
Tabla 11. Rendimientos de aceite esencial obtenidos aplicando el pre-tratamiento de ultrasonido con extracción por microondas. ....	36
Tabla 12. Análisis de Varianza (ANOVA) por el modelo polinomial de tercer orden o cúbico ajustado.....	38
Tabla 13. Resultados del análisis de regresión del modelo polinomial de tercer orden para la maximización del aceite esencial.....	38
Tabla 14. Cuadro de restricciones para la maximización, obtenido por la metodología de superficie de respuesta (RSM) .....	44
Tabla 15. Rendimientos de aceite esencial de cáscara de naranja Valencia ( <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck) según método de extracción .....	46
Tabla 16. Características fisicoquímicas del aceite esencial de cáscara de naranja Valencia .....	49
Tabla 17. Composición química del aceite esencial de cáscara de naranja valencia ( <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck) obtenido por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido.....	51



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la naranja.....	3
Figura 2. Línea de crecimiento de producción de naranja desde el año 2011 al 2018 .....	6
Figura 3. Unidad de isopreno (2-metil- 1,3-butadieno).....	10
Figura 4. Estructura química del D-limoneno .....	15
Figura 5. Perfil Cromatográfico del aceite esencial de cáscara de naranja dulce <i>citrus sinensis</i> <i>L. Osbeck</i> , variedad Valenciana, cultivada en Labateca (Colombia) extraído por hidroddestilación asistida por radiación de microondas (HDMO).....	17
Figura 6. Flujo de operaciones para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja por equipo microondas.....	30
Figura 7. Flujo de operaciones para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja por hidroddestilación .....	31
Figura 8. Gráfica del rendimiento predicho con el actual .....	41
Figura 9. Gráfica de contorno de la temperatura vs tiempo, mostrando el porcentaje de rendimiento de extracción.....	42
Figura 10. Gráfica en 3D de la temperatura versus tiempo, mostrando el porcentaje de rendimiento de extracción.....	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA TUKEY (STATGRAPHICS) PARA COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS.....	65
ANEXO 2: EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL.....	67
ANEXO 3: EFECTO DEL TIEMPO EN EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL	67
ANEXO 4: MAXIMIZACIÓN DEL RENDIMIENTO.....	68
ANEXO 5: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARACIÓN DE MEDIAS (STATGRAPHICS).....	68
ANEXO 6: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA TUKEY (STATGRAPHICS) PARA COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN .....	69
ANEXO 7: CROMATOGRAMA GC-MS DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA VALENCIA (CITRUS SINENSIS L. OSBECK) OBTENIDO POR MICROONDAS CON PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO.....	70
ANEXO 8: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA VALENCIA (CITRUS SINENSIS L. OSBECK) OBTENIDO POR MICROONDAS E HIDRODESTILACIÓN.....	71
ANEXO 9: FOTOGRAFÍAS.....	72

## RESUMEN

Los aceites esenciales tienen propiedades funcionales de gran importancia en la industria alimentaria, en su composición contienen compuestos volátiles (terpenos) y derivados oxigenados (aldehídos, alcoholes y ésteres). En la presente investigación, se trabajó con subproductos como la cáscara de naranja dulce Valencia (*Citrus sinensis L. Osbeck*), y se determinó que la extracción por microondas con un pre tratamiento de ultrasonido, como metodología no convencional, tienen un efecto positivo en el rendimiento y en la calidad del aceite esencial, cabe resaltar que para la extracción no se utilizó solventes. Asimismo, se obtuvo las mejores variables independientes de tiempo y temperatura del equipo ultrasónico que lograron el mayor rendimiento, para un nivel de significancia de  $p < 0,05$ , aplicando la metodología de superficie de respuesta (RSM) mediante el programa Desing-Expert® DX7Trial/MyDesing.dX7 y utilizando un diseño central compuesto (DCC). Para el resultado, primero se realizó el pre-tratamiento de ultrasonido con el equipo Ultrasonic Cleaners a 220V y 35kHz en un rango de temperatura ( $20^{\circ}\text{C}$ - $55^{\circ}\text{C}$ ) y un rango de tiempo (1-35 minutos), obtenidos por especificaciones técnicas del equipo ultrasónico y por pruebas preliminares. Posteriormente, se extrajo el aceite esencial con el equipo Mycroware Gravity Station (230V, 60Hz), a la potencia de 540W con un tiempo de 25 minutos. Mediante la metodología de superficie de respuesta se obtuvo 11 combinaciones de temperatura y tiempo de ultrasonido (tres repeticiones del punto central) los cuales fueron desarrollados experimentalmente, donde todos los datos obtenidos se ajustaron a una ecuación cúbica con  $R^2$  de 0.9915 y  $R^2$ -ajustado de 0.9891, logrando determinar que a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  y un tiempo de 19 minutos de ultrasonido se obtuvo el mayor rendimiento de  $11.1793 \pm 0.052$  por ciento de aceite esencial (base seca). El rendimiento obtenido se evaluó y comparó con el rendimiento obtenido mediante la extracción por hidrodestilación donde se obtuvo  $6.72 \pm 0.252$  por ciento y aplicando solamente extracción por microondas donde se obtuvo  $6.98 \pm 0.081$  por ciento. Se realizó el análisis fisicoquímico y se determinó la composición química del aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS), identificándose 15 compuestos, obteniéndose 94.87 por ciento de limoneno y 1.03 por ciento de  $\beta$ -Linalool en el aceite esencial obtenido por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido.

Palabras claves: Naranja, aceite esencial, ultrasonido, microondas, hidrodestilación.

## ABSTRACT

Essential oils have functional properties of great importance in the food industry, in their composition they contain volatile compounds (terpenes) and oxygenated derivatives (aldehydes, alcohols and esters). In the present investigation, we worked with by-products such as Valencia sweet orange peel (*Citrus sinensis* L. Osbeck), and it was determined that microwave extraction with an ultrasound pre-treatment, as an unconventional methodology, has a positive effect on the performance and quality of the essential oil, it should be noted that no solvents were used for the extraction. Likewise, the best independent variables of time and temperature of the ultrasonic equipment that achieved the highest performance were obtained, for a level of significance of  $p < 0.05$ , applying the response surface methodology (RSM) through the Desing-Expert® program. DX7Trial / MyDesing.dX7 and using a composite central layout (DCC). For the result, the ultrasound pre-treatment was first performed with the Ultrasonic Cleaners equipment at 220V and 35kHz in a temperature range (20 ° C-55 ° C) and a time range (1-35 minutes), obtained by technical specifications of the ultrasonic equipment and by preliminary tests. Subsequently, the essential oil was extracted with the Mycroware Gravity Station equipment (230V, 60Hz), at the power of 540W with a time of 25 minutes. Through the response surface methodology, 11 combinations of temperature and ultrasound time were obtained (three repetitions of the central point) which were developed experimentally, where all the data obtained were adjusted to a cubic equation with  $R^2$  of 0.9915 and  $R^2$ -adjusted of 0.9891, managing to determine that at a temperature of 25 ° C and a time of 19 minutes of ultrasound, the highest yield of  $11.1793 \pm 0.052$  percent of essential oil (dry base) was obtained. The yield obtained was evaluated and compared with the yield obtained by hydrodistillation extraction where  $6.72 \pm 0.252$  percent was obtained and applying only microwave extraction where  $6.98 \pm 0.081$  percent was obtained. The physicochemical analysis was carried out and the chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS), identifying 15 compounds, obtaining 94.87 percent of limonene and 1.03 percent of  $\beta$ -Linalool in the essential oil obtained by microwaves with ultrasound pre-treatment.

Keywords: Orange, essential oil, ultrasound, microwave, hydrodistillation.

## I. INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria se busca el aprovechamiento de subproductos, como las cáscaras, que den un valor agregado al producto final. Los aceites esenciales se utilizan para obtener aromas y sabores que son ampliamente utilizados en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética, etc. Actualmente se siguen estudiando las propiedades de los aceites esenciales desde el punto de vista funcional y tecnológico, que varían con la proporción de los componentes presentes (Peredo-Luna *et al.*, 2009).

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas, que pueden ser extraídos de diferentes partes de las plantas como hojas, cáscaras, semillas, tallos, flores y raíces, variando sus componentes en el aceite esencial (Tongnuanchan y Soottawat, 2014).

Según Peredo-Luna *et al.* (2009), diversas investigaciones demuestran que la composición de los aceites esenciales puede variar de acuerdo al método de extracción utilizado, de ahí la importancia de investigar métodos nuevos y/o alternativos que sean eficientes, económicos y favorables al ambiente para la extracción de aceites esenciales. Asimismo, menciona que la extracción por microondas es una tecnología nueva para la extracción de estas sustancias, que permite una extracción eficiente y rápida.

La inexistencia de estudios en cuanto al mejoramiento del rendimiento de extracción del aceite esencial de cáscara de naranja, hace posible que esta investigación opte en utilizar como pre tratamiento el ultrasonido, siendo de esta manera el objetivo principal determinar su efecto en el rendimiento y calidad del aceite esencial. Asimismo, como objetivos específicos, determinar la mejor combinación de tiempo y temperatura de ultrasonido y su efecto en el rendimiento durante la extracción por microondas. También, se comparará el rendimiento con respecto al método convencional, equipo Clevenger, y se analizará la calidad del aceite esencial.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. NARANJA**

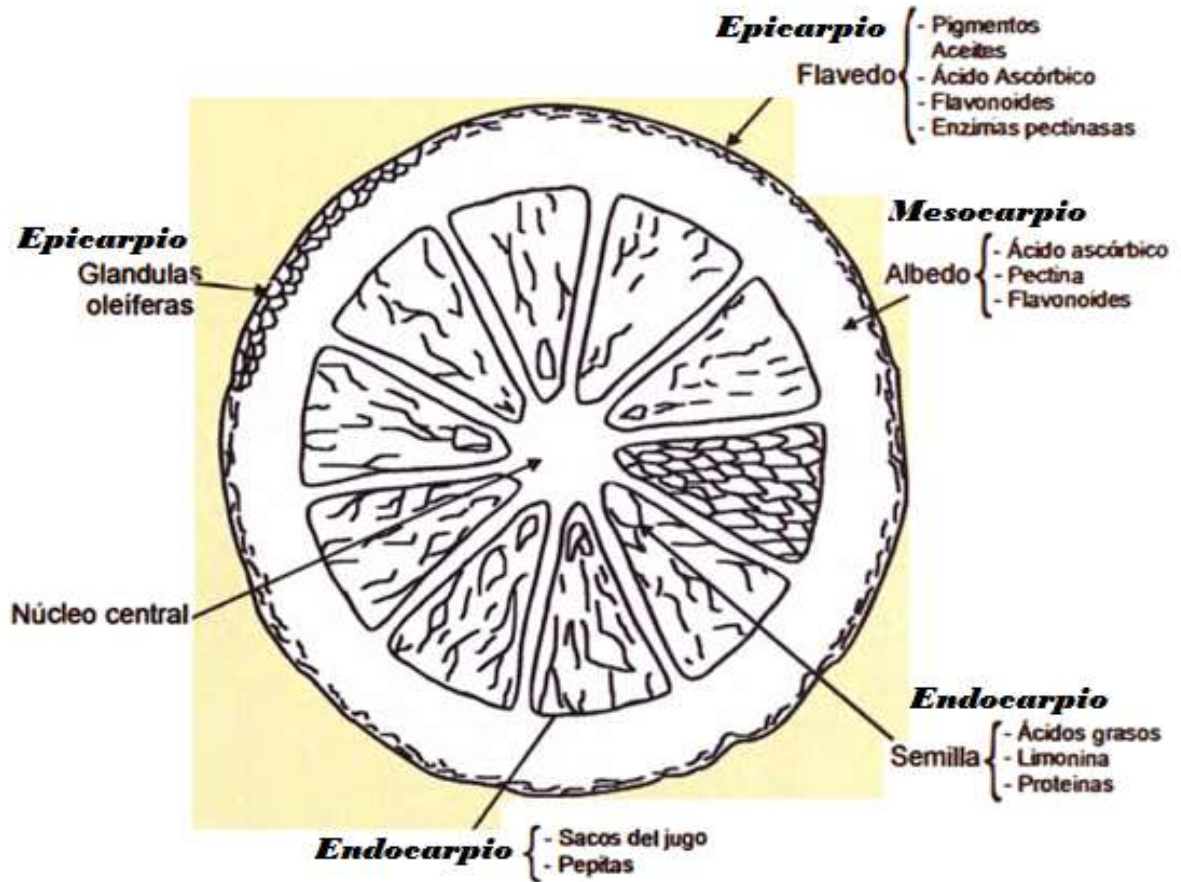
#### **2.1.1. GENERALIDADES**

La naranja es el fruto del naranjo dulce, árbol que pertenece al género *Citrus* de la familia de las Rutáceas. Esta familia comprende más de 1.600 especies. El género botánico *Citrus* es el más importante de la familia y consta de unas 20 especies con frutos comestibles todos ellos muy abundantes en vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Los frutos, llamados hespérides, tienen la particularidad de que su pulpa está formada por numerosas vesículas llenas de jugo (Armas y Costa, 2011).

La naranja dulce (*Citrus sinensis* L. Osbeck), es el tipo más importante de cítricos comerciales que se produce en el mundo y se pueden clasificar en cuatro grupos (naranjas comunes, naranjas navel, naranjas sanguinas y naranjas sucrenas). Dentro de las naranjas comunes se encuentra la variedad Valencia, Hamlin, Salustiana, etc., la variedad Valencia es la naranja más frecuente de este grupo y es la variedad comercial más abundante de todas las variedades de cítricos, estas variedades se adaptan a diversas condiciones ambientales y resisten heladas de hasta 4.5°C bajo cero (Ollachica, 2004).

El fruto cítrico está formado por una estructura que está dividida en tres partes (Figura 1). La primera es el epicarpio, el cual está compuesto por la epidermis y el flavedo. La epidermis tiene la función de proteger el fruto y es la parte externa del mismo, y el flavedo es de color verde y está ubicado debajo de la epidermis, aquí es donde se encuentran numerosos sacos de aceite esencial. La segunda parte del fruto es el mesocarpio, conocido también como albedo, este es el material blanco y esponjado que se encuentra entre el flavedo y el fruto.

Por último, está el endocarpio, el cuál es la parte comestible del fruto y de donde se extrae el jugo (Gómez y Schwentesius, 2008).



**Figura 1. Anatomía de la naranja**

FUENTE: Ollachica, (2004)

### 2.1.2. HISTORIA

El naranjo dulce procede de las regiones surorientales de Asia, su cultivo se realiza en el sur de China desde hace miles de años, desde donde se extendió por todo el sudeste asiático. Las primeras naranjas dulces conocidas en Europa parece que fueron introducidas por los portugueses desde la India en el siglo XVI. Con la llegada de los europeos al nuevo mundo, en el siglo XVI, desde España se trajeron especies de cítricos al Perú, donde se inicia su cultivo en el valle del Rímac y valles más al norte. De estos lugares, los cítricos fueron llevados a los valles abrigados de la sierra y años más tarde a la selva alta, así como la selva

baja del territorio nacional. El cítrico más importante es la naranja dulce, siendo las variantes de este más difundidas el “Washington Navel” y el “Valencia” (Reátegui, 2005).

### 2.1.3. ESTADÍSTICA DE PRODUCCIÓN DE NARANJA

En el año 2000 la naranja ocupa el tercer lugar en importancia en la producción frutícola del Perú, con un total de 257419 toneladas anuales (Tabla 1), siendo el primer lugar el del plátano y el segundo el del limón sutil (Reátegui, 2005).

**Tabla 1. Producción de naranja en toneladas por departamento en el año 2000**

REGIÓN	PRODUCCIÓN (T)	SUPERFICIE (HA)
Tumbes	128	11
Piura	2 729	441
Lambayeque	3 003	494
La libertad	5 814	772
Cajamarca	5 450	942
Amazonas	4 353	474
Ancash	4 031	417
<b>Lima</b>	<b>36 429</b>	<b>2 332</b>
Ica	9 725	748
Huánuco	8 509	656
Pasco	4 333	367
<b>Junín</b>	<b>107 352</b>	<b>8 036</b>
Huancavelica	427	107
Arequipa	80	21
Moquegua	115	21
Tacna	-	-
Ayacucho	3 372	469
Apurímac	305	48
Cusco	5 193	836
<b>Puno</b>	<b>22 386</b>	<b>2 216</b>
San Martín	10 807	930
Loreto	1 321	206
<b>Ucayali</b>	<b>20 792</b>	<b>2 468</b>
Madre de Dios	765	94
<b>TOTAL</b>	<b>257 419</b>	<b>23 106</b>

FUENTE: Ministerio de Agricultura, Oficina de información Agraria, 2000 (Reátegui, 2005)



El departamento con mayor producción de naranja para el año 2000, es Junín con 107 352 toneladas, seguido por el departamento de Lima con 36 429 toneladas (Ministerio de Agricultura, Oficina de información Agraria 2000).

En el año 2018 la naranja ocupa el cuarto lugar en la producción frutícola del Perú, con un total de 502 822 toneladas anual (Tabla 2), siendo el primer lugar el plátano, segundo la uva y el tercero la piña (Ministerio de Agricultura y Riego, 2018).

**Tabla 2. Producción de naranja en toneladas por departamento en el año 2018**

<b>REGIÓN</b>	<b>PRODUCCIÓN (T)</b>	<b>SUPERFICIE (HA)</b>
Tumbes	640	25
Piura	2 384	494
Lambayeque	2 528	475
La libertad	2 319	253
Cajamarca	5 318	990
Amazonas	5 548	488
Ancash	2 427	323
<b>Lima</b>	<b>32 845</b>	<b>969</b>
Ica	29 261	1 012
Huánuco	11 577	908
Pasco	596	51
<b>Junín</b>	<b>289 812</b>	<b>13 921</b>
Huancavelica	399	56
Arequipa	164	27
Moquegua	81	13
Tacna	2 622	176
Ayacucho	2 314	479
Apurímac	346	73
Cusco	22 772	2 178
<b>Puno</b>	<b>27 444</b>	<b>2 713</b>
<b>San Martín</b>	<b>48 711</b>	<b>4 209</b>
Loreto	3 555	543
Ucayali	8 046	939
Madre de Dios	1 113	143
<b>TOTAL</b>	<b>502 822</b>	<b>31 458</b>

FUENTE: Ministerio de Agricultura y Riego, (2018)

El departamento con mayor producción de naranja para el año 2018 es Junín con 289 812 toneladas, seguido por el departamento de San Martín con 48 711 toneladas (Ministerio de Agricultura y Riego, 2018).

En el Perú se produce en mayor cantidad la variedad Valencia y Washington navel, la naranja Valencia se produce principalmente en la selva central en el departamento de Junín, y la variedad Washington navel se produce en Lima e Ica (Ollachica, 2004).

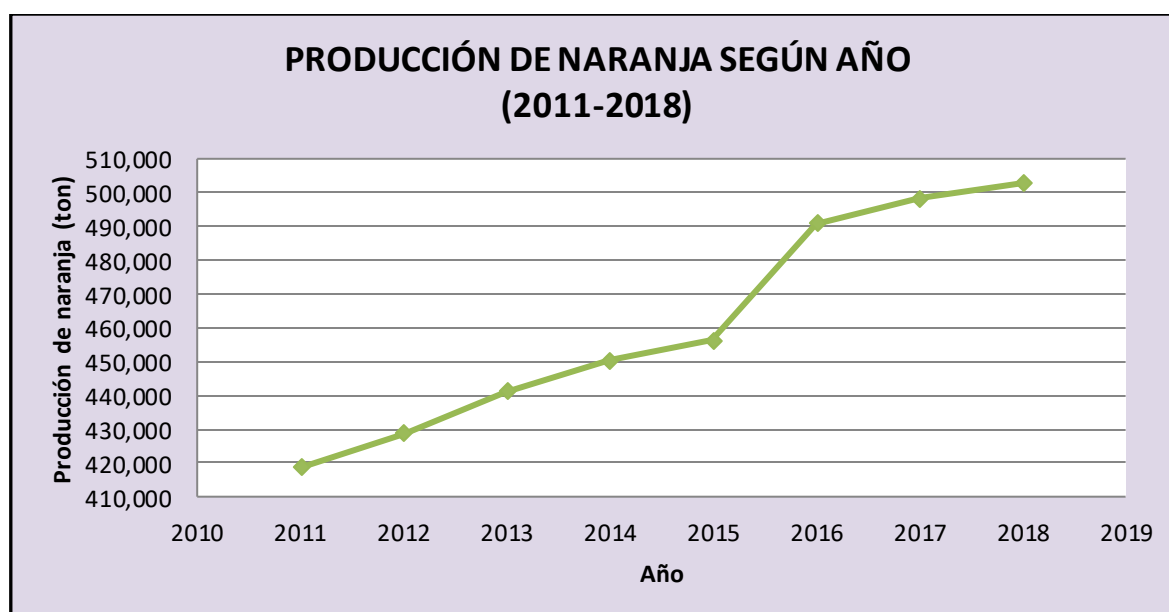
A continuación, se muestra en la Tabla 3 y Figura 2 el crecimiento de la producción de naranja desde el año 2011 al 2018.

**Tabla 3. Producción de naranja (2011 al 2018)**

<b>AÑO</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
<b>Naranja</b>	418,6*	428,8*	441,1*	450,4*	456,2*	490,9*	498,4*	502,8*

\*Miles de toneladas métricas

FUENTE: Ministerio de Agricultura y Riego, (2018)



**Figura 2. Línea de crecimiento de producción de naranja desde el año 2011 al 2018**

FUENTE: Adaptado del Ministerio de Agricultura y Riego, (2018)

#### **2.1.4. ESTADÍSTICA DE DESECHOS A PARTIR DE LA NARANJA**

El procesamiento de naranjas es una industria importante en todo el mundo y conduce a la producción de grandes cantidades de residuos de piel de naranja. El zumo de naranja es un producto agroindustrial importante a nivel mundial, su producción lleva a la generación de una gran cantidad de cáscara de naranja, residuos que representan aproximadamente el 50-60% de la fruta procesada, incluye cáscaras, semillas y residuos de membrana podridos/descartados (Calabro *et al.*, 2018).

Los desechos agroindustriales son materiales en fase sólida o líquida que se originan del consumo directo de productos primarios o su industrialización. Se producen muchas toneladas de cáscaras de naranja en todo el mundo, y el manejo de estos desechos constituye un problema importante. Tradicionalmente, las cáscaras de naranja se procesan para obtener las fracciones volátiles y no volátiles de los aceites esenciales para su uso en aromas y productos cosméticos (Tovar *et al.*, 2019).

De una tonelada de naranja se obtiene (Gómez y Schwentesius, 2008):

- 20 galones de concentrado de jugo a 65 grados Brix.
- 1.95 kg de aceite esencial.
- 100 kg de alimento para ganado.

La industria alimenticia es una de las más importantes a nivel internacional, donde los productos generados son para el consumo humano. Este tipo de actividades en todos sus niveles generan residuos, los cuales se busca sean aprovechados, reutilizados o revalorizados. Una parte de la industria alimenticia son las materias primas tales como las frutas, donde un grupo importante está conformado por los cítricos. El procesamiento de estos puede generar residuos de hasta un 15% w/w con respecto a la entrada al proceso, por lo que su aprovechamiento resulta importante. Una alternativa es revalorizar y utilizar los residuos de cáscara de naranja para obtener productos de valor agregado (Díaz, 2002).

Durante los años 2013 y 2014, los principales países productores de cítricos, como Brasil, China, India, Estados Unidos, Unión Europea, México, Egipto, Turquía y Sudáfrica, produjeron alrededor de 140 millones de toneladas de estas frutas, de las cuales el 60% eran naranjas. A nivel mundial, se estima que más del 30% de los cítricos producidos (40% en el caso de las naranjas) son procesados por la industria alimentaria cada año. Este procesamiento, incluido el jugo y el enlatado, genera grandes cantidades de residuos de cáscaras de cítricos (19 millones de toneladas al año) que tienen el potencial para ser utilizado como materia prima de bio-refinería (Bustamante *et al.*, 2016).

### **2.1.5. UTILIZACIÓN DE LA NARANJA**

En general la naranja se consume principalmente como jugo, de preferencia natural y exprimida al momento, en algunos restaurantes se usa como un componente en platillos de alta cocina y de cocina tradicional, se consume poco en mermeladas o dulces, así como poco es el consumo de la naranja en forma de licor (Amador *et al.*, 2012).

Se estima que la naranja se consume en fresco en el mundo en un 52% en los países productores, sólo un 8% se comercializa en fresco en los mercados mundiales, y un 40% es destinado para consumo industrial interno y externo de los países. En Estados Unidos y Brasil la mayor parte de la producción de naranja es utilizada para transformación industrial en forma de zumo, mientras que la producción del mediterráneo (Israel, Líbano, Palestina) se consume y exporta en fresco (Martínez, 2005).

El mercado de los cítricos en fresco, especialmente el de la naranja, tiende a perder importancia relativa frente al de los jugos derivados de ellos y de otros frutos. Los procesados de mayor relevancia en el mercado de exportación son el jugo de naranja y el concentrado de naranja (Martínez, 2005).

De la naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, sino que de la cáscara de la naranja se pueden obtener aceites esenciales que se utilizan como aromatizantes en diferentes industrias (Díaz, 2002).

### **2.1.6. SUBPRODUCTOS DE LA NARANJA**

De la naranja se obtienen subproductos como los que mencionan a continuación (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1995):

- Flavedo: Se obtiene aceites esenciales, colorantes naturales y materia prima para la alimentación animal.
- Semillas: Se obtiene aceite comestible y materia prima para la alimentación animal.
- Bolsas de jugo: Se obtiene jugo, células congeladas y pectina.
- Parte central: Se obtiene pectina cítrica y alimentación animal.
- Albedo: Se obtiene pectina cítrica y alimentación animal.
- Segmento y membranas del segmento: Sirve para alimentación animal.

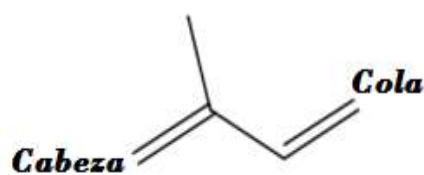
### **2.2. ACEITE ESENCIAL**

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes). Los aceites esenciales se clasifican en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios (Cerutti y Neumayer, 2004).

Son en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados, por ejemplo, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, sustancias azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes derivan biológicamente del ácido mevalónico y se les cataloga como terpenos, siendo los más abundantes los monoterpenos (C10) y los sesquiterpenos (C15) (Yáñez *et al.*, 2007).

### 2.2.1. LOS TERPENOS COMO CONSTITUYENTES QUÍMICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES

El término terpenoide se refiere a un grupo de sustancias que tienen un origen biosintético común y que siguen la llamada “regla del isopreno”, que significa que los terpenos son compuestos naturales. Estructuralmente los terpenos están constituidos por varias cadenas pentacarbonadas ramificadas, estas cadenas se encuentran unidas por los extremos de cabeza o cola (cíclico o lineal) siendo la unidad principal la molécula del isopreno (Figura 3) (Martins, 2005).



**Figura 3. Unidad de isopreno (2-metil- 1,3-butadieno)**

FUENTE: Martins, (2005)

Pueden clasificarse como:

C10: Monoterpenos (Esencias)

C15: Sesquiterpenos (Esencias)

C20: Diterpenos (Resinas)

C30: Triterpenos (Carotenoides)

C40: Tetraterpenos (Carotenoides)

C>40: Politerpenos (Caucho)

(Martins, 2005).

Los aceites esenciales son mezclas complejas que contienen entre otros terpenos volátiles, lo que significa que están básicamente constituidos por monoterpenos, sesquiterpenos y en algunos casos de diterpenos. El grupo principal de terpenoides encontrados en los aceites esenciales de las cáscaras de naranjas son los monoterpenos (Yáñez *et al.*, 2007).

### a. **Hidrocarburos Monoterpénicos**

Los hidrocarburos monoterpénicos de fórmula general  $C_{10}H_{16}$  se encuentran presentes en los aceites esenciales conjuntamente con los hidrocarburos sesquiterpénicos ( $C_{15}H_{24}$ ), los cuáles sirven principalmente como vehículos para los grupos más importantes de compuestos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres) los cuales, aunque presentes en cantidades mucho menores, son generalmente los portadores de olor característico del aceite esencial. Todos los monoterpenos son volátiles cuando se les destila con vapor (Gutiérrez, 2008).

- Con estructuras alifáticas acíclicas. Ejemplos:

$\beta$ -mirceno  $C_{10}H_{16}$

cis- $\alpha$ -ocimeno  $C_{10}H_{16}$

- Con estructuras cíclicas o aromáticas. Ejemplos:

d-limoneno

$\alpha$ -pineno

### **2.2.2. CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL**

Las características de los aceites esenciales se pueden ver afectadas por los métodos de extracción, la variedad, el clima del lugar de cultivo, la madurez de la fruta y durante su almacenamiento puede afectar la presencia de luz y de oxígeno, pero lo más importante es su conservación a baja temperatura, para evitar alteraciones (Quiroz, 2009).

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, traslúcidos y con una tonalidad amarillenta, al ser expuesto al aire se tornan espesos y colorean inmediatamente, la mayoría presentan una densidad menor que el agua, refractan la luz polarizada, al presentar compuestos ópticamente activos adquieren un poder rotatorio característico, son solubles en

solventes apolares, sin embargo, suelen tener una alta solubilidad en etanol y en algunos casos también en agua (Luna Berbesí, 2007).

### **2.2.3. UTILIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales tienen numerosas aplicaciones en la industria, tales como (Caballero y Rodríguez, 2014):

- Industria cosmética y farmacéutica: se usa en los perfumes, conservantes, principios activos, etc.
- Industria de alimentos y derivados: tienen aplicación como potenciadores de sabor para todo tipo de bebidas, helados, galletas, golosinas, productos lácteos, etc.
- Industria de productos de limpieza: sirven para dar fragancias a los jabones, detergentes, desinfectantes, productos de usos hospitalarios, etc.
- Industria de plaguicidas: como agentes pulverizantes, atrayentes y repelentes de insecto, etc.
- Medicina: algunos aceites esenciales, como el de lavanda (planta medicinal muy usada en la antigüedad), se utilizan en el tratamiento de heridas y quemaduras.

### **2.2.4. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES**

Un tema trascendental en la producción de aceites esenciales es el control de calidad, para verificar si estos se ajustan a los estándares establecidos por las normas de un país determinado, para un control de los productores y muy importante para la seguridad de los compradores y consumidores, para evitar igualmente fraudes y adulteraciones, así como diferenciar esencias naturales de las artificiales o sintéticas (Gutiérrez, 2008).

La calidad de los aceites esenciales no sólo se puede ver afectada por los métodos de extracción, sino también por otros factores como la variedad de naranja empleada, el clima del lugar de cultivo, la madurez de la fruta y durante su almacenamiento puede afectar la presencia de luz y de oxígeno, pero lo más importante es su conservación a baja temperatura, para evitar alteraciones (Quiroz, 2009).



Fontenla (2006), menciona que existen factores externos como el clima, el suelo, la incidencia de plagas, malezas y las condiciones técnicas de cultivo, cosecha y manejo post-cosecha y también que hay factores internos como las variedades o selecciones dentro de una misma especie, la etapa de desarrollo de la planta, la edad de la misma y la parte vegetal que se utilice, que influyen en la calidad del aceite esencial.

**Tabla 4. Parámetros utilizados para el control de calidad de los aceites esenciales**

<b>Características organolépticas</b>	Olor Color
<b>Determinaciones físicas</b>	Densidad Miscibilidad en etanol Índice de refracción
<b>Índices químicos</b>	Índice de acidez Índice de fenoles Índice de éster Determinación de aldehídos y cetonas
<b>Características cromatográficas</b>	Cuantificación de los componentes principales Análisis por cromatografía de gases (GC-MS)

FUENTE: Valdez, (2017)

Los aceites esenciales, por el hecho de ser una mezcla de muchas sustancias; hidrocarburos terpénicos saturados e insaturados, aldehídos, alcoholes, etc., están propensos a oxidaciones por la acción del aire, luz, metales pesados, etc., así mismo, se polimeriza e hidrolizan muy fácilmente, sufriendo cambios en la coloración, olor y sabor; por tanto, se debe tomar medidas para preservarlas (Gutierrez, 2008).

#### **2.2.5. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES**

- Temperatura, esto obedece a que ciertas condiciones geobotánicas son más favorables para ciertas especies.

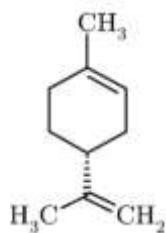
- Luz (fotoperíodo), la incidencia lumínica solar modifica la forma y tamaño de los canales secretores, estimulando la función clorofílica, alterando la proporción de esencias y su composición terpénica.
  - Otros gases atmosféricos y/o polvo fino emanado por empresas productoras de cemento.
  - Humedad atmosférica, viento y precipitación periódica de lluvias.
  - Época de recolección
  - Parte de la planta raíz, tallo, hojas, flores, semillas, etc., y la estacionalidad de la materia prima.
  - Método de extracción.
- (Gutiérrez, 2008).

### **2.3. ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA**

Dentro de la composición el D-limoneno es el componente mayoritario, ya que está presente en más del 90%. Además, en menor proporción posee una gran cantidad de terpenos (Yáñez *et al.*, 2007).

El D-limoneno es un monoterpeno no oxigenado a partir de la combinación de dos unidades de isopreno, constituyendo hasta el 90-95% en aceite de cáscara de naranja (Bustamante *et al.*, 2016). Por otro lado, es uno de los ingredientes básicos en las industrias de perfumería, alimentos, agronómica y farmacéutica (Díaz, 2002).

El limoneno se separa industrialmente por un proceso de desterpenación del aceite esencial y puede obtenerse en grandes cantidades a partir de la cáscara de naranja para ser utilizado en diversas aplicaciones como en procesos industriales, químicos, farmacéuticos y alimenticios. Asimismo, el D-limoneno podría usarse como disolvente verde en lugar de los solventes peligrosos del petróleo para la limpieza de grasas y aceites. También es bien sabido que los terpenos que constituyen la mayor parte de los aceites cítricos tienen una fuerte actividad antifúngica (Quiroz, 2009). En la figura 4 se muestra la estructura química del D-limoneno.



**Figura 4. Estructura química del D-limoneno**

FUENTE: Yáñez *et al.*, (2007)

### 2.3.1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS

El aceite esencial de cáscara de naranja debe cumplir con ciertas características (Tabla 5 y 6) (Quiroz, 2009).

**Tabla 5. Características fisicoquímicas del aceite esencial de cáscara de naranja dulce, *citrus sinensis* L. Osbeck**

Propiedad	Característica
Color	Naranja/ Incoloro
Olor	Típico del fruto
Aspecto	Brillante
Gravedad específica a 20°C	0,84-0,85
Índice de refracción a 20°C	1,4710-1,4770
Rotación óptica a 20°C	92-99
Residuo fijo%	2-4,5
Solubilidad en alcohol de 90°	9-14,5

FUENTE: Quiroz, (2009).

**Tabla 6. Propiedades físicas y químicas del limoneno**

Propiedad	Limoneno
Fórmula molecular	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Peso molecular	136,24 g/mol

<<Continuación>>	
Estado físico	Líquido
Color/olor	Incoloro/cítrico
Punto de ebullición	178°C
Densidad a 20°C	0.84g/cm <sup>3</sup>
Solubilidad en agua a 20°C	Insoluble
Índice de refracción a 20°C	Mínimo 1.471 Máximo 1.474

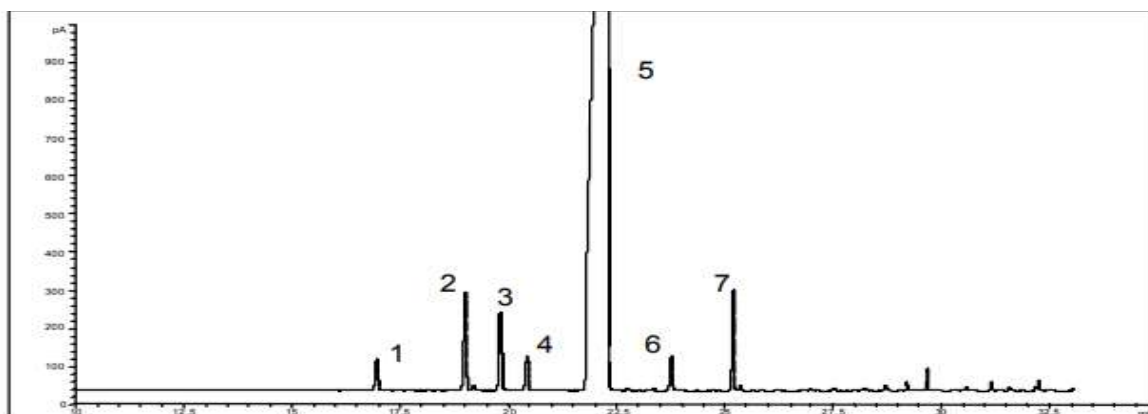
FUENTE: Quiroz, (2009)

### 2.3.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Se han encontrado 200 compuestos químicos diferentes, presentes en el aceite esencial de naranja, de los cuales se han identificado 100. Los monoterpenos abarcan hasta el 97% de la composición, alcoholes, aldehídos y ésteres abarcando el menor porcentaje de componentes (1.8 a 2.2%) (Velázquez, 2010).

El principal componente de dichos aceites es el limoneno, dicho compuesto puede llegar a abarcar hasta un 98% de la composición del aceite esencial de naranja. La diferencia de los componentes se debe a la variedad y madurez de la naranja a partir de la cual se extrajo el aceite, las condiciones del medio en que se desarrolló y la época del año, además del método de extracción del mismo (Velázquez, 2010).

En la Figura 5 se muestra el perfil cromatográfico y en la Tabla 7 la identificación de los componentes del aceite esencial de cáscara de naranja dulce *citrus sinensis L. Osbeck*, variedad Valenciana, extraído por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO).



**Figura 5. Perfil Cromatográfico del aceite esencial de cáscara de naranja dulce *Citrus sinensis* L. Osbeck, variedad Valenciana, cultivada en Labateca (Colombia) extraído por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO)**

FUENTE: Yáñez *et al.*, (2007)

**Tabla 7. Identificación de los componentes del aceite esencial de cáscara de naranja dulce *Citrus sinensis*, de variedad Valenciana, cultivada en Labateca (Colombia) extraído por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO)**

N°	t <sub>R</sub> min	Concentración relativa (%)	IK <sub>lit.</sub> <sup>1</sup>	IK <sub>exp.</sub> <sup>2</sup>	Identificación
1	16.962	0.43%	921	922	Isocitroneleno
2	19.009	1.62%	953	952	Canfeno
3	19.820	1.66%	978	979	Trans-p-Mentano
4	20.426	0.69%	1004	1003	p-Menta-1(7),8- dieno
5	21.957	90.93%	1031	1034	Limoneno
6	23.747	0.45%	1072	1071	Dihidromircenol
7	25.210	1.78%	1200	1202	Trans- Dihidrocarvona

FUENTE: Yáñez *et al.*, (2007)

## **2.4. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CONVENCIONALES**

### **2.4.1. EXTRACCIÓN POR HIDRODESTILACIÓN**

El principio de la destilación en agua es llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, de tal manera que los vapores generados pueden ser condensados y colectados. El aceite, que es inmiscible en agua, es posteriormente separado. En la destilación con agua el material vegetal siempre debe encontrarse en contacto con el agua. El equipo recomendado para realizar estas pruebas preliminares es el sistema Clevenger modificado. El tiempo de destilación por este método es función de los componentes presentes en el aceite esencial. Si el aceite contiene compuestos de alto punto de ebullición, el tiempo de destilación deberá ser mayor. Los aceites esenciales obtenidos mediante destilación en agua normalmente presentan notas más fuertes y un color más oscuro (Gutierrez, 2008).

Clevenger convencional o aparato de hidrodestilación, es el mejor método convencional para determinar el contenido de aceite esencial de la fruta. La extracción por hidrodestilación tarda varias horas, con frecuencia se realiza mediante un calentamiento prolongado y agitación en agua hirviendo (Ferhat *et al.*, 2006).

Las pérdidas y degradación de algunos compuestos volátiles debido a los tiempos de extracción largos, la degradación de los compuestos insaturados o éster a través de efectos térmicos o hidrolíticas son las principales desventajas de estos métodos de extracción (Okoh *et al.*, 2010).

### **2.4.2. DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR**

En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros “no volátiles”. Su función no es la de “arrastrar” el componente volátil, sino condensarse formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa),

por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia. La condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que el componente volátil sea insoluble en agua, ya que el producto destilado (volátil) formará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto y del agua fácilmente.

La destilación por arrastre de vapor es un método sencillo y de bajo costo, pero su inconveniente es que requiere largos periodos de tiempo y tiene rendimientos bajos en comparación con otros métodos (Peredo-Luna *et al.*, 2009).

### **2.4.3. EXTRACCIÓN POR SOLVENTES**

En el método de extracción son solventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característico de muchos solventes orgánicos volátiles (Gutierrez, 2008).

Se basan principalmente en la selección de solventes, temperatura o agitación, con el fin de incrementar la solubilidad de los materiales y la tasa de transferencia de masa. Se separan los compuestos con base en sus solubilidades por dos líquidos inmiscibles, usualmente agua y un solvente orgánico (Azuola y Vargas, 2007).

### **2.4.4. EXPRESIÓN**

Es un método mecánico en el que se somete a presión ciertos productos, se rompen los pequeños sacos que contienen algunas sustancias aprovechables como aceite esencial o grasa. Normalmente se hace un raspado con un esmeril y luego es sometido a presión para ser recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de cítricos (Gutierrez, 2008).

## **2.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN NO CONVENCIONALES**

### **2.5.1. EXTRACCIÓN POR MICROONDAS**

Las microondas, son ondas electromagnéticas de menor energía que la luz visible y mayor que las ondas de radio. Su longitud de onda oscila entre 1m y 1mm (la longitud de onda es la distancia que separa a dos puntos que se encuentren en el mismo estado de vibración) (Contreras, 2010).

El principal efecto de las microondas consiste en su capacidad de producir cambios en la rotación molecular y en la movilidad iónica del medio sin alterar la muestra. Las microondas producen dos interacciones básicas (Contreras, 2010):

- Disipación de energía por conductividad térmica: Al atravesar una onda electromagnética un fluido, los iones presentes en esta se ven afectados por su paso ejerciendo una fuerza que hace migrar lo iones en función del campo eléctrico. Esta migración iónica lleva asociada una resistencia del fluido al movimiento de iones. De este modo esa resistencia produce un calentamiento generalizado de la muestra ya que los iones están en todas partes del fluido.
- Disipación de energía por rotación de dipolos: En moléculas con dipolos eléctricos el campo eléctrico asociado a la radiación electromagnética produce un alineamiento de los mismos con el campo. De este modo cuando pasa la onda los dipolos se encuentran ordenados perfectamente en la dirección del campo, pero cuando este cesa las moléculas se reorganizan anárquicamente produciéndose fricción con el disolvente y, por lo tanto, calor.

Ambos fenómenos ocurren en todos los lugares de la muestra por igual, de este modo el método es mucho más eficaz que el calentamiento con otros medios que primero calientan el recipiente y luego es éste el que calienta la muestra (Contreras, 2010).



Entre las ventajas del uso de las microondas para realizar extracciones se tiene (Contreras, 2010):

- Técnica rápida.
- Bajo consumo de disolventes.
- Control de todos los parámetros de extracción.
- Agitación y extracción de modo simultáneo.
- Se logran a altas temperaturas y presiones.

La extracción por microondas es un método de extracción amigable con el medio ambiente y limpio, evitando el uso de grandes cantidades de agua. Asimismo, podría usarse para producir grandes cantidades de aceites esenciales utilizando reactores existentes de extracción por microondas a gran escala. Estos reactores de microondas son adecuados para la extracción de 10, 20 o 100 kg de material vegetal fresco por tiempo y podrían modificarse fácilmente para las extracciones (Ferhat *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales obtenidos por microondas pueden analizarse o usarse directamente sin ningún tipo de limpieza, intercambio de disolventes o etapas de centrifugación. Además, mediante la microscopía electrónica de barrido se puede observar como el microondas deja intacto las células de la pared celular del cítrico. Sin embargo, para tener resultados favorables, la potencia y el tiempo del microondas deben estar relacionados. La potencia debe ser lo suficiente para alcanzar el punto de ebullición del agua in situ del producto, evitando altas potencias que causarían pérdidas de los compuestos volátiles y el tiempo que es el factor principal porque afecta directamente el rendimiento debe ser el adecuado para evitar obtener destilados oscuros y con propiedades olfativas menos agradables (Ferhat *et al.*, 2007).

## **2.5.2. EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS**

Un fluido supercrítico es cualquier sustancia a una temperatura y presión sobre su punto crítico termodinámico. Tiene una habilidad única para difundirse a través de los sólidos como un gas y de disolver materiales como un líquido, generando solvente de baja viscosidad, altas tasas de difusión y sin tensión superficial. Se utilizan, principalmente,

dióxido de carbono y agua. Se puede realizar una extracción selectiva de diferentes compuestos utilizando distintas presiones del fluido supercrítico (Azuola y Vargas, 2007).

Entre las ventajas de la extracción por fluidos supercríticos se encuentran: Los tiempos de extracción se reducen, rendimientos mayores, se requiere menos energía, es posible seleccionar sustancias y la composición de los extractos, cambiando los parámetros de extracción (Peredo-Luna *et al.*, 2009).

Entre las desventajas es que ceras cuticulares y compuestos de alto peso molecular son extraídos junto con el aceite esencial (Peredo-Luna *et al.*, 2009). También el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (Gutierrez, 2008).

### **2.5.3. EXTRACCIÓN TURBO**

Utiliza un agitador de alta velocidad, que induce cavitación hidrodinámica, aumentando el rendimiento de extracción, ya que se aumenta el contacto entre el material vegetal y el solvente y el proceso de difusión a través de las paredes celulares se incrementa (Azuola y Vargas, 2007).

### **2.5.4. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO**

El ultrasonido tiene algunas implicaciones sobre la desintegración celular, aumentando así la transferencia de masa. Se basa en la ruptura de las estructuras celulares de los alimentos vegetales y con ello una mejor extracción del aceite esencial (Peredo-Luna *et al.*, 2009). El fenómeno de cavitación se da durante ultrasonidos, en el que debido a la acción de las intensas ondas sonoras se produce en los sitios de nucleación del líquido múltiples microburbujas, que luego crecen y posteriormente colapsan (Damyeh *et al.*, 2016).

La conversión de energía sónica en energía mecánica en forma de ondas de choque se produjo a través del colapso de las burbujas. Esta energía transmite el movimiento a partes

desintegradas de las células que se produjeron cuando el contenido de energía de ultrasonido supera la resistencia de la pared. Los principales factores que intervienen en la rotura de la célula son los chorros de agua y ondas de choque producidas por ultrasonido.

El efecto mecánico de ultrasonido acelera la liberación de los componentes mediante la interrupción de las paredes celulares, mejora la transferencia de masa, y facilita el acceso de disolventes en el contenido celular (Damyeh *et al.*, 2016).

La extracción asistida por ultrasonido utiliza sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado de material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente. Esta técnica es más económica y tiene los requerimientos instrumentales más bajos entre las últimas técnicas de extracción desarrolladas (Azuola y Vargas, 2007).

Los fenómenos físicos que afectan la extracción de sustancias se ven afectados por la aplicación de ultrasonido, ya sea que las sustancias de interés se encuentren en células internas o externas del tejido. Al reducir el tamaño de las partículas del material vegetal se aumenta el área de exposición al solvente y a la cavitación producida. El ultrasonido además facilita la rehidratación del tejido si se están utilizando materiales secos al abrir los poros, lo cual a su vez incrementa el transporte de masa de los constituyentes solubles por difusión y procesos osmóticos (Azuola y Vargas, 2007).

El ultrasonido se encuentra en la región de frecuencias entre 18 kHz y 100 MHz; puede dividirse en ultrasonido de alta intensidad, con frecuencias bajas, entre 20 y 100 kHz y ultrasonido de diagnóstico entre 1 y 10 MHz. El ultrasonido de alta intensidad tiene la capacidad de inducir cavitación. También se ha considerado una fuente potencial para incrementar la reactividad química. Puede usarse en diversos procesos químicos e industriales. En general, la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia o alta intensidad, incrementa la eficiencia de la extracción y reduce el tiempo de ésta. Asimismo, disminuye el riesgo de degradación térmica, cuando la extracción se realiza a temperaturas de 25°C. La proporción en la composición de los extractos y el rendimiento de éstos depende de la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso y del disolvente, o mezcla de disolventes, que se utilicen (Peredo-Luna *et al.*, 2009).

Chemat *et al.* (2011), indica que las aplicaciones de ultrasonido se basan en tres métodos diferentes: Aplicación directa al producto, acoplamiento con el dispositivo y el sumergimiento en un baño de ultrasonido.

## **2.6. DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL**

Los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 compuestos, dentro de los cuales se encuentran los compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. Sin embargo, la mayoría de monoterpenos y sesquiterpenos se encuentran presentes en los aceites esenciales de diversas plantas y a partir de dichos aceites es posible realizar su aislamiento mediante la utilización de uno o varios métodos cromatográficos tales como la cromatografía en columna, en capa fina y HPLC. Adicionalmente, la técnica acoplada cromatografía de gases - espectrometría de masas, permite obtener el espectro de masas de cada componente con el cual se obtiene el peso molecular e información estructural (Martínez, 2001).

### **2.6.1 DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LOS ACEITES ESENCIALES POR CROMATOGRFÍA DE GASES CON ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

La cromatografía de gases (GC) es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas.

Sin embargo, en cromatografía de gases, la influencia de la temperatura sobre la distribución del equilibrio es considerable, a diferencia de la cromatografía líquida. Por ello, la cromatografía de gases presenta limitaciones en tres casos:

- compuestos poco volátiles, en general los de peso molecular superior a 300u.m.a.
- compuestos sensibles a una elevación de la temperatura incluso moderada (determinados compuestos de interés biológico).

- compuestos que se encuentran en forma iónica (puesto que son en general poco volátiles). Por esta razón, la cromatografía de gases se emplea cuando los componentes de la mezcla problema son volátiles o semi-volátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400°C. En cambio, cuando los compuestos a analizar son poco volátiles y/o termolábiles, la técnica separativa adecuada suele ser la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Gutierrez y Droguet, 2002).

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutierrez y Droguet, 2002).

A menudo la cromatografía de gases se emplea para confirmar de la presencia o ausencia de un compuesto en una muestra determinada. Esto se lleva a cabo por comparación del cromatograma de la sustancia pura con el de la muestra, siempre que las condiciones para la obtención de ambos sean idénticas. Una de las dificultades de esta comparación es que puede haber diferentes compuestos que presenten el mismo comportamiento cromatográfico bajo condiciones idénticas, lo que llevaría a identificaciones erróneas. En consecuencia, las mejores técnicas de análisis cualitativo son aquellas que combinan la capacidad de separación de la cromatografía con la capacidad de la identificación de técnicas como la espectrometría de masas (técnicas acopladas) (Gutierrez y Droguet, 2002).

La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Recientemente, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, etc. Sus principales cualidades son:

- Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.
- Gran sensibilidad
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases (Gutierrez y Droguet, 2002).

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas cromatografía de gases y espectrometría de masas da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas (Gutierrez y Droguet, 2002).

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

El trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Biotecnología de Alimentos, Investigación y Análisis Sensorial y la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

#### **3.2. MATERIA PRIMA**

- Cáscara de naranja de la variedad Valencia obtenido por la empresa AGROSELVA, la naranja es proveniente de la provincia de Chanchamayo del departamento de Junín.

#### **3.3. MATERIALES, EQUIPOS E INSTRUMENTOS Y REACTIVOS**

##### **3.3.1. MATERIALES**

- Viales ámbar (1 y 5mL).
- Flexible de polietileno y poliamida
- Tabla de picar
- Cuchillo de mano
- Cucharón de aluminio
- Bowl de aluminio
- Vasos precipitados (50, 100, 250, 600 y 1000mL)
- Probeta (10mL)
- Pipeta Pasteur de vidrio (1mL)
- Tubos de ensayo

- Picnómetro de 5mL, con termómetro incorporado
- Cápsulas

### **3.3.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

- Equipo microondas “Microwave Gravity Station”, marca MILESTONE S.R.L (ITALIA), serie 1605097, modelo NEOS-GR.
- Equipo de baño ultrasónico “Ultrasonic Cleaners”, marca VWR™(USA), serie 1025 H0011, modelo 97043-930.
- Cortador de alimentos, marca ROBOT COUPE CL50 (USA), serie 322276950001, modelo R5 V.V.
- Empacadora al vacío, marca KOMET (ALEMANIA), serie 2972596316, modelo Plus Vac 20.
- Equipo Clevenger de laboratorio de biotecnología (UNALM)
- Balanza analítica, marca AND (KOREA), serie 50004, modelo N92.
- Balanza de precisión, marca METTLER TOLEDO (USA), serie 602206860045, modelo Mettler PE 2000.
- Balanza Infrarroja, marca OHAUS CORPORATION (USA), serie OH-0200, modelo MB 35.
- Refractómetro ABBE, serie AR, modelo Kruss (PERÚ).
- Agitador Vortex, marca VELP<sup>R</sup> Scientific (ALEMANIA), modelo F202A0175

### **3.3.3. REACTIVOS**

- Sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), marca PANREAC (ESPAÑA).
- Agua destilada
- Alcohol de 96°, 90, 80 y 70, marca DIONS (PERÚ).

### **3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS**



### 3.4.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

- **Determinación de la gravedad específica:** Se realizó conforme a la Norma Técnica Peruana ITINTEC N° 319.081:1974, este método se basa en determinar la densidad por el método del picnómetro y a temperatura de 20°C.
- **Índice de refracción:** Se determinó mediante el método 921.08:2007 AOAC. El método consiste en medir el cambio de dirección que experimente un haz de luz, se colocó una gota en el prisma del refractómetro ABBE y se tomó la medida teniendo en cuenta la temperatura para luego corregirla a 20°C.
- **Determinación de la solubilidad en alcohol:** Se determinó conforme a la Norma Técnica Peruana ITINTEC N° 319.084:1974. Para la prueba se utilizó alcohol etílico de 96°, 90°, 80° y 70° GL, se colocó 0.3 ml de aceite esencial en cada tubo de ensayo con ayuda de una micropipeta y se fue añadiendo 0.3ml de alcohol etílico para luego ser agitado en un vortex.
- **Determinación de residuos por evaporación:** Se realizó según la Norma Técnica Peruana ITINTEC N° 319.089:1974. El método consistió en colocar 0.3ml de aceite esencial en una capsula y colocarlo en baño maría hasta que se volatilice el aceite.

### 3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.5.1. EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL POR MICROONDAS UTILIZANDO PRETRATAMIENTO DE ULTRASONIDO

En la Figura 6, se muestra el flujo de operaciones de la extracción por microondas de las cáscaras de naranja utilizando el pre-tratamiento con ultrasonido. Las operaciones se describen a continuación:

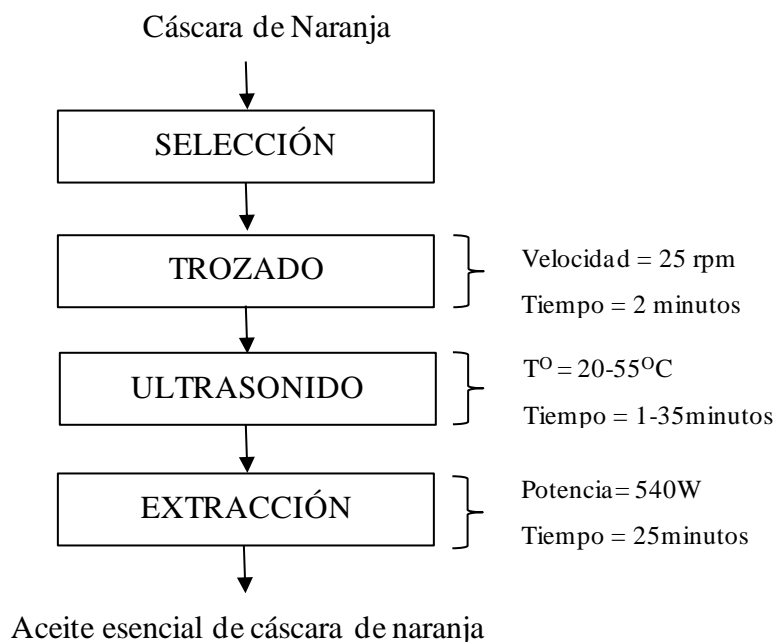
**Selección:** Se realizó en forma manual, eliminando las que presentaban deterioro y hongueamiento.

**Trozado:** Las cáscaras de naranja fueron trozadas con ayuda del equipo cortador de alimentos (Robot Coupe) a velocidad de 25 rpm por un tiempo de 2 minutos (parámetros

determinados mediante pruebas preliminares), con la finalidad de reducir el tamaño de partícula para facilitar la extracción del aceite esencial. El tamaño de las partículas de cáscara de naranja estuvo dentro del rango de 2-3 mm.

**Ultrasonido:** Para el pretratamiento con ultrasonido, se utilizó 500gr de cáscara de naranja trozada que se colocaron en vasos de precipitado de 600 mL que se sumergieron en un baño ultrasónico (Ultrasonic Cleaners a 220V y 35kHz) por un tiempo y temperatura determinada. El rango de temperatura estuvo comprendido entre 20°C-55°C y el tiempo de tratamiento entre 1 minuto hasta 35 minutos (tiempo en el cual el rendimiento de aceite esencial era constante, determinado por pruebas preliminares).

**Extracción:** La extracción de aceite esencial de cáscara de naranja se realizó en el equipo microondas Mycroware Gravity Station (230V, 60Hz), sin utilizar solvente bajo la metodología propuesta por Bousbia *et al.* (2009). La potencia utilizada fue de 540W y el tiempo que se utilizó para la extracción de aceite esencial fue de 25 minutos, obtenido por pruebas preliminares tomando en cuenta el rango de tiempo (18 - 40 minutos) mencionado por Franco Vega *et al.* (2015). Asimismo, la temperatura de enfriamiento del sistema de refrigeración fue de 5°C para todas las extracciones.



**Figura 6. Flujo de operaciones para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja por equipo microondas**

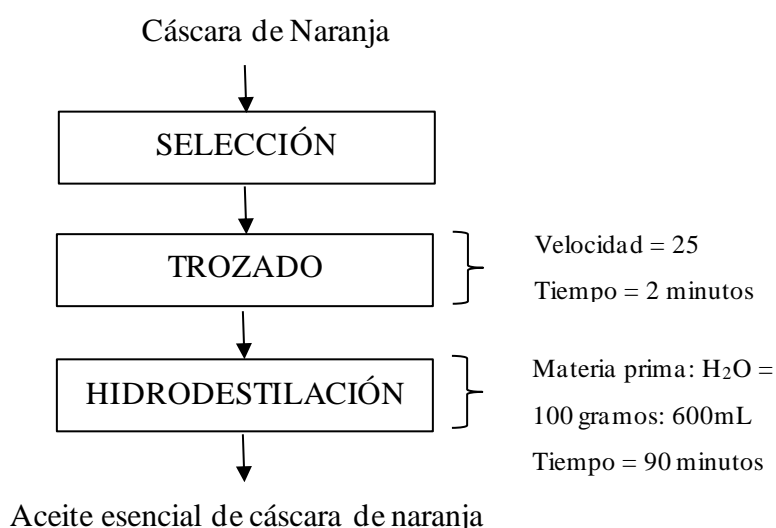
### 3.5.2. EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL POR HIDRODESTILACIÓN (HD)

Para la obtención de aceite esencial de cáscaras de naranja por hidroddestilación se siguió la metodología propuesta por Bousbia *et al.* (2009). En la Figura 7 se muestra el flujo de operaciones, el cual se describe a continuación.

**Selección:** Las cáscaras de naranja se seleccionaron de manera manual.

**Trozado:** Las cáscaras de naranja fueron trozadas con ayuda del equipo cortador de alimentos (Robot Coupe) a velocidad de 25 rpm por un tiempo de 2 minutos (parámetros determinados mediante pruebas preliminares), con la finalidad de reducir el tamaño de partícula para facilitar la extracción del aceite esencial. El tamaño de las partículas de cáscara de naranja estuvo dentro del rango de 2-3mm.

**Extracción:** Se llevó a cabo en el equipo Clevenger. Se colocaron 100 gr de cáscara de naranja trozadas en el balón de destilación, adicionando 600 mL de agua destilada y se procedió a destilar por 90 minutos.



**Figura 7. Flujo de operaciones para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja por hidroddestilación**

**Almacenaje de las muestras de aceite esencial extraídas por los dos métodos:** Las muestras de aceite esencial, luego de las extracciones fueron envasadas en viales de color ámbar y se almacenaron a 4 °C hasta su caracterización fisicoquímica.

### **3.6. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL**

$$\%Rendimiento\ de\ extracción(v/p) = \frac{V}{P \times H_0} \times 100$$

V= Volumen de aceite esencial en mililitros.

P = Peso de cáscara de naranja en gramos.

H<sub>0</sub> = Humedad inicial en base seca de la cáscara de naranja.

### **3.7. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL**

La preparación de la muestra de aceite esencial para el análisis se realizó de acuerdo a la Norma Técnica Peruana ITINTEC N° 319-077 (1974). Consistió en agregarle a la muestra sulfato de sodio anhidro en una proporción del 10% del peso del aceite esencial a fin de que absorba la humedad residual que contiene y esté apta para el análisis.

### **3.8. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

Para la determinación y cuantificación de los componentes del aceite esencial de cáscara de naranja extraído por microondas utilizando un pretratamiento de ultrasonido se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C; las condiciones cromatográficas se detallan a continuación:

- 20µL del aceite esencial fue diluido en 1mL de diclorometano y luego se inyectó 1µL al cromatógrafo de gases.
- Volumen de inyección: 1µl.
- Relación de división: 100:1.
- Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325°C: 60m x 250µm x 0.25µm.

- Rampa de temperatura: Empieza en 40°C y sube a 5°C/min hasta 180°C; 2.5°C/min hasta 200°C manteniéndose por 5min y finalmente 10°C/min hasta 300°C, manteniéndose por 3min.
- Gas portador: He, 1ml/min

### 3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL

Con el fin de determinar el mejor tratamiento de ultrasonido (tiempo y temperatura) que logre el mayor rendimiento de aceite esencial (variable respuesta) se utilizó un diseño compuesto central (DCC) de la metodología de Superficie de Respuesta (RSM), a través de ella se obtuvieron las combinaciones de las variables independientes, también llamados factores de tiempo y temperatura del equipo ultrasónico que influyen en el rendimiento para un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Los niveles mínimos y máximos de los factores dieron dos niveles codificados como -1 para el nivel inferior y +1 para el nivel superior (Tabla 8).

**Tabla 8. Variables independientes y sus niveles, empleando un DCC**

FACTO R	VARIABLE INDEPENDIENT E	UNIDA D	NIVEL	NIVEL	-	+
			INFERIO R -1	SUPERIO R +1		
A:	Temperatura	°C	25	50	20	55
B:	Tiempo	Minutos	6	30	1	35

Se obtuvo 11 tratamientos, con tres puntos centrales (38°C, 18min), los cuales fueron desarrollados desde la temperatura mínima a la temperatura máxima (Tabla 9). Las repeticiones fueron tres para cada tratamiento, llevándose a cabo todo el diseño experimental en el software Desing-Expert® DX7Trial/mydesing.dx7. Además, se realizó comparaciones entre el valor máximo de rendimiento obtenido con el método por microondas con los dos métodos de extracción: solo por microondas y por hidrodestilación. Realizando un total de 13 tratamientos a evaluar (Tabla 10).

**Tabla 9. Tratamientos obtenidos aplicando el Diseño Central Compuesto (DCC)**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>FACTOR A: TEMPERATURA (°C)</b>	<b>FACTOR B: TIEMPO (min)</b>
1	20	18
2	25	6
3	25	30
4	38	1
5	38	18
6	38	18
7	38	18
8	38	35
9	50	6
10	50	30
11	55	18

### **3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

- Para la maximización de los parámetros de temperatura y tiempo de ultrasonido, los cálculos estadísticos se realizaron mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) de la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM), para un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .
- Se realizó una prueba T-student para verificar si existe diferencias significativas entre el valor máximo de rendimiento obtenido por el software y los valores de rendimiento obtenidos experimentalmente.

Tabla 10. Esquema experimental

MATERIA PRIMA	EXTRACCIÓN POR MICROONDAS CON PRETRATAMIENTO DE ULTRASONIDO	EXTRACCIÓN SOLO POR MICROONDAS	EXTRACCIÓN POR HIDRODESTILACIÓN	ACEITE ESENCIAL	
T1					
T2					
T3					
T4					
T5					
T6					
T7					
T8					
T9					
T10					
T11					
T12					
T13					
-ANÁLISIS: HUMEDAD	-ANÁLISIS: RENDIMIENTO (%) -METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA: ANOVA	ANÁLISIS: RENDIMIENTO (%)	ANÁLISIS: RENDIMIENTO (%)	ANÁLISIS FISCOQUIMICOS	

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. EFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO EN LA CANTIDAD DE ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO POR MICROONDAS

La Tabla 11 muestra los tratamientos realizados y la cantidad de aceite esencial que se obtuvo para cada combinación de temperatura y tiempo (variables independientes).

**Tabla 11. Rendimientos de aceite esencial obtenidos aplicando el pre-tratamiento de ultrasonido con extracción por microondas.**

N° TRATAMIENTOS	FACTOR A: TEMPERATURA (°C)	FACTOR B: TIEMPO (MINUTOS)	VARIABLE RESPUESTA RENDIMIENTO %
T1	20	18	11.37 ± 0.251 <sup>h</sup>
T2	25	6	8.62 ± 0.134 <sup>d</sup>
T3	25	30	9.34 ± 0.128 <sup>e</sup>
T4	38	1	7.72 ± 0.119 <sup>c</sup>
T5	38	18	10.12 ± 0.082 <sup>fg</sup>
T6	38	18	9.98 ± 0.303 <sup>f</sup>
T7	38	18	10.00 ± 0.267 <sup>f</sup>
T8	38	35	8.08 ± 0.157 <sup>cd</sup>
T9	50	6	10.61 ± 0.242 <sup>g</sup>
T10	50	30	5.30 ± 0.145 <sup>a</sup>
T11	55	18	6.70 ± 0.147 <sup>b</sup>

Los valores de la misma letra no difieren (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

Se observa que, en general, existen diferencias significativas a un nivel de 95% de confianza (Anexo 1), entre los rendimientos de los diferentes tratamientos de combinación de



temperatura y tiempo de ultrasonido. Por ello, es muy importante determinar la combinación temperatura y tiempo que junto a la extracción por microondas dé el mayor rendimiento en aceite esencial.

Entre las combinaciones de temperatura y tiempo de ultrasonido, el tratamiento 1 (20 °C y 18 minutos) obtuvo la mayor cantidad de aceite esencial ( $11.37 \pm 0.251\%$ ), comparándolo con los demás y los tratamientos 10 (50 °C y 30 minutos) y 11 (55 °C y 18 minutos) obtuvieron los rendimientos más bajos de aceite esencial,  $5.30 \pm 0.145\%$  y  $6.70 \pm 0.147\%$  respectivamente. Estas diferencias se pueden explicar por el tiempo prolongado y la temperatura muy alta de los tratamientos 10 y 11. Ferhat *et al.* (2007), en su investigación comparando diferentes métodos de extracción de frutos cítricos, menciona que el tiempo de extracción es el factor principal que afecta directamente a la cantidad de aceite esencial. Por su parte, Nora y Borges (2017), indica que los aceites esenciales son poco estables a altas temperaturas y tiempos prolongados de extracción, ya que se observan pérdidas de rendimiento y reacciones de degradación, disminuyendo la calidad del producto y para Mnayer *et al.* (2017), en su estudio de extracción del absoluto verde de tomillo mediante ultrasonido, indica que el efecto del ultrasonido disminuye con temperaturas superiores a 50°C, ya que a temperaturas muy elevadas hay una disminución de las ondas de choque. Por ello, es importante determinar la temperatura adecuada para lograr una aplicación de ultrasonido eficiente y además evitar la destrucción de compuestos aromáticos. Asimismo, indica que el tiempo de aplicación de ultrasonido no debe ser largo porque después de cierto tiempo las burbujas de cavitación no continúan absorbiendo energía para crecer y colapsar.

#### **4.2. MAXIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA Y TIEMPO DEL PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO Y SU EFECTO EN EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL OBTENIDO POR EXTRACCIÓN CON MICROONDAS**

Se aprecia en la siguiente tabla los cálculos estadísticos que se obtuvieron en el ANOVA de la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) que se utilizó para la maximización de temperatura y tiempo en el pretratamiento de ultrasonido. Asimismo, en la tabla 13 se muestra el modelo polinomial de tercer orden.

**Tabla 12. Análisis de Varianza (ANOVA) por el modelo polinomial de tercer orden o cúbico ajustado**

<b>FUENTE</b>	<b>SUMA DE CUADRADOS</b>	<b>Grado de libertad (GL)</b>	<b>CUADRADO MEDIO</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P (Prob &gt; F)</b>
Modelo	98.881	7	14.126	415.419	< 0.0001 (significativo)
A:					
TEMPERATURA	32.667	1	32.667	960.679	< 0.0001
B: TIEMPO	0.198	1	0.198	5.823	0.0235
AB	27.180	1	27.180	799.333	< 0.0001
A <sup>2</sup>	4.222	1	4.222	124.174	< 0.0001
B <sup>2</sup>	19.278	1	19.278	566.932	< 0.0001
A <sup>2</sup> B	9.756	1	9.756	286.900	< 0.0001
AB <sup>2</sup>	7.774	1	7.774	228.612	< 0.0001
A <sup>3</sup>	0.000	0			
B <sup>3</sup>	0.000	0			
Residual	0.850	25	0.034		
Lack of Fit	0.000004167	1	0.000004167	0.000117 6	0.9914 (No significativo)
Error puro	0.850	24	0.035		
Cor Total	99.731	32			
Std. dev.	0.18				
Mean	8.89				
C.V.%	2.07				
PRESS	1.4227039				

**Tabla 13. Resultados del análisis de regresión del modelo polinomial de tercer orden para la maximización del aceite esencial**

<b>FUENTE</b>	<b>Resultados</b>
%ACEITE ESENCIAL	Y =
PUNTO DE INTERCEPCIÓN	+10.654
A: TEMPERATURA	-0.424A
B: TIEMPO	+0.550B
AB	+0.018A*B
A <sup>2</sup>	+ 9.046E-003*A <sup>2</sup>
B <sup>2</sup>	- 0.031*B <sup>2</sup>
A <sup>2</sup> *B	- 6.800E-004*A <sup>2</sup> *B

<<Continuación>>

---

A*B2	+ 6.323E-004*A*B2
R-Squared	0.9915
Adj. R-Squared	0.9891
Pred. R-Squared	0.9857
Adeq. Precision	66.791

---

En los resultados obtenidos, el modelo polinomial de tercer orden indicó que la variable lineal A tiene un efecto negativo (-0.424A) y la variable lineal B tiene un efecto positivo (+0.550B) en el rendimiento de extracción, esto quiere decir que si se aumenta la temperatura de ultrasonido puede generar una disminución en el rendimiento y si se aumenta el tiempo de ultrasonido puede generar un aumento en el rendimiento hasta un cierto límite de acuerdo a los resultados. Por su parte, la interacción AB tiene un efecto positivo al igual que la variable cuadrática A2, sin embargo, la variable cuadrática B2 tiene un efecto negativo. Con respecto a las interacciones de las variables A2B, AB2 mostraron efecto negativo y positivo respectivamente en el rendimiento de extracción. Belhachat *et al.* (2018), indica que el signo y la magnitud de los coeficientes de la ecuación cúbica obtenidos por el ANOVA, permiten interpretar el efecto de las variables independientes en la respuesta. Señala que la variable respuesta disminuye cuando el signo del coeficiente es negativo, en cambio aumentará cuando el signo del coeficiente sea positivo.

Se obtuvo un  $R^2$  0.9915 que es el coeficiente de determinación por el modelo polinomial de tercer orden que predijeron los datos obtenidos de rendimiento de aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) y el  $R^2$ -ajustado que se obtuvo fue de 0.9891, valor cercano al  $R^2$ , e indica un alto grado de correlación entre el dato observado y predicho. Tan *et al.* (2012), menciona que un  $R^2$  alto indica que la varianza de la variable dependiente podría ser contabilizada por los datos satisfactoriamente para ajustar el modelo. Sin embargo,  $R^2$  no es considerado como el punto principal para implicar la precisión del modelo, porque al adicionar variables al modelo aumentará su valor. Debido a este asunto, el  $R^2$ -ajustado es más apropiado para evaluar el modelo si su valor es más del 90%. Asimismo, Chan *et al.* (2009) indica que el  $R^2$ -ajustado fue un valor corregido para el  $R^2$  después de la eliminación de los términos innecesarios del modelo, puesto que, si se hubieran incluido muchos términos no significativos en el modelo, el  $R^2$ -ajustado sería notablemente más pequeño que el  $R^2$ .

Se puede observar que la variable independiente de temperatura A tiene un efecto altamente significativo (Valor P <0.0001) y la variable independiente del tiempo de ultrasonido B tiene un efecto significativo, pero menos importante que la variable A (Valor P 0.0235). Con respecto, a la interacción AB, las variables cuadráticas A2-B2 y las interacciones A2B-AB2 los efectos son similares a la variable independiente de temperatura A, ya que son altamente significativos. Asimismo, el valor P del modelo obtenido (<0.0001) es inferior a 0.05 y el Valor F del modelo es 415.419, lo que conlleva a mencionar que el modelo polinomial de tercer orden es significativo. Belhachat *et al.* (2018), menciona que el modelo es significativo con un valor P menor a 0.05 y, por otro lado, un valor superior a 0.1 indica que el modelo no es significativo.

Se puede observar que el valor P para la prueba de Lack of fit es 0.9914 (no significativo), esto indica que el modelo polinomial de tercer orden elegido es el adecuado porque el modelo se ajusta a los datos, en comparación a los otros modelos. Prasad *et al.* (2011), menciona que la prueba de Lack of fit (falta de ajuste) ayuda a determinar que un modelo es el adecuado cuando el valor P es mayor a 0.05, además indica que el modelo tiene la capacidad para predecir con precisión la variación de los datos.

Al analizar los datos (tabla 12) se obtuvo un coeficiente de variación de 2.07%, valor pequeño, que indica que los resultados experimentales son confiables y que el modelo polinomial de tercer orden es reproducible. Además, el Adeq Precision obtenido por el ANOVA es de 66.791 y se obtuvo un valor PRESS de 1.4227039, lo que conlleva a mencionar que todos los parámetros estadísticos muestran la confiabilidad del modelo polinomial de tercer orden elegido. Belhachat *et al.* (2018), describe el coeficiente de variación (CV) como la forma en que se dispersan los datos y como varían en relación con el tamaño de la media. Pequeños valores de coeficiente de variación ( $CV < 1$  o 100%) indica que el modelo es reproducible. Por otro lado, explica que la medición de precisión del modelo también se puede determinar mediante el valor “Adeq Precision” que significa una relación señal/ruido, cuando el Adeq precision es mayor a 4 el modelo es el adecuado y puede ser usado. También, menciona que la suma de cuadrados residual prevista (PRESS) por el modelo, es una medida de cómo un modelo en particular se ajusta a cada punto del diseño y debe ser valores pequeños.

#### 4.2.1. ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO OBTENIDO DE ACEITE ESENCIAL UTILIZANO EL MODELO POLINOMIAL DE TERCER ORDEN

A continuación, se aprecia en la siguiente figura la gráfica de los rendimientos de aceite esencial predichos por el software frente a los rendimientos de aceite esencial actual obtenidos en la parte experimental.

Se observa en la figura 8 que están cerca de la línea recta los rendimientos que se obtuvieron en las pruebas experimentales y los valores pronosticados por la metodología de superficie de respuesta. El  $R^2$  fue 0.9915 (coeficiente de determinación) y el  $R^2$ -ajustado es 0.9891, esto indica que el modelo polinomial de tercer orden debe ser utilizado para la determinación de las variables independientes máximas del ultrasonido ya que es el más adecuado, siendo el correcto para predecir el mejor rendimiento del aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck).

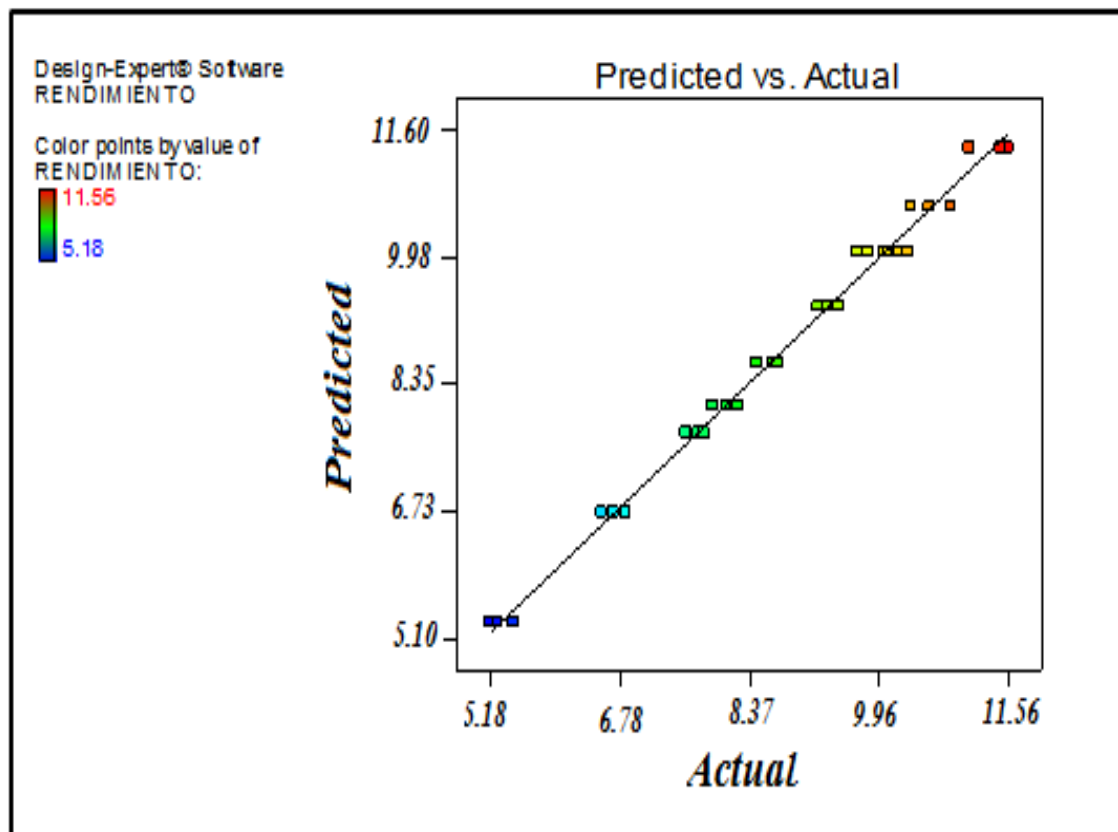
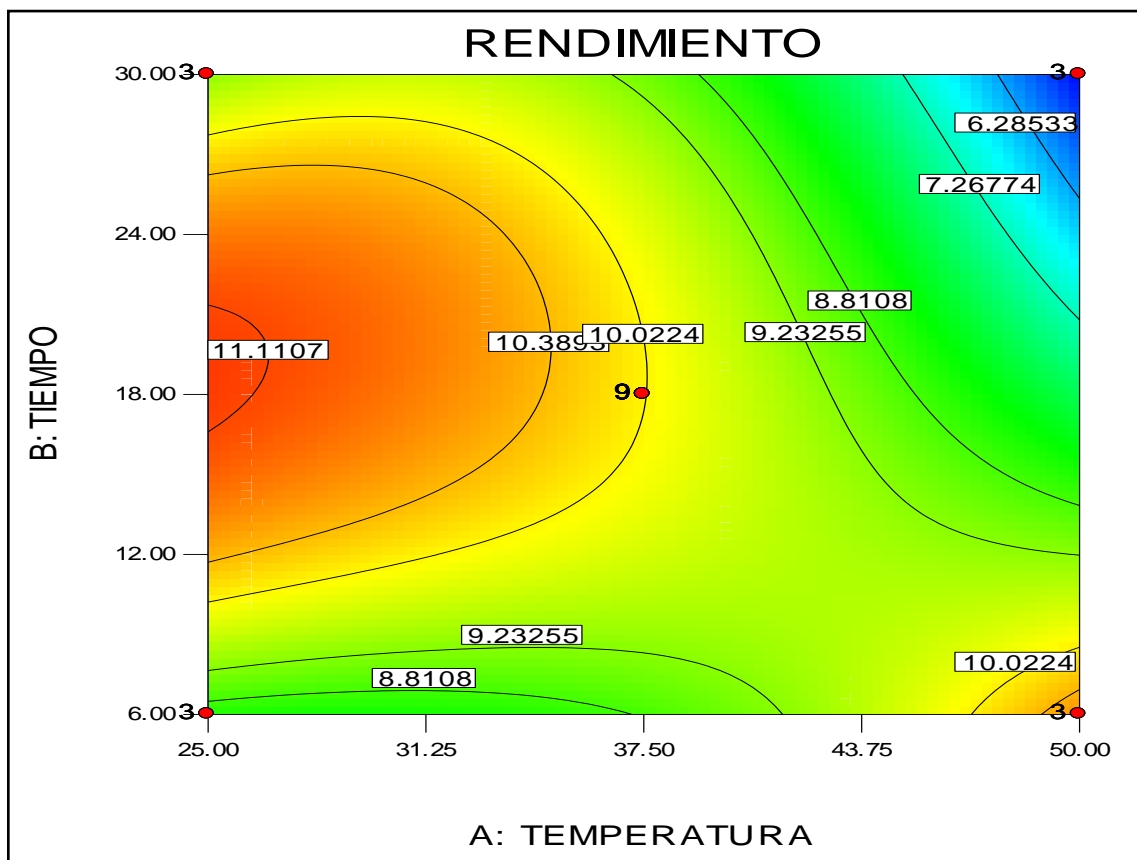


Figura 8. Gráfica del rendimiento predicho con el actual

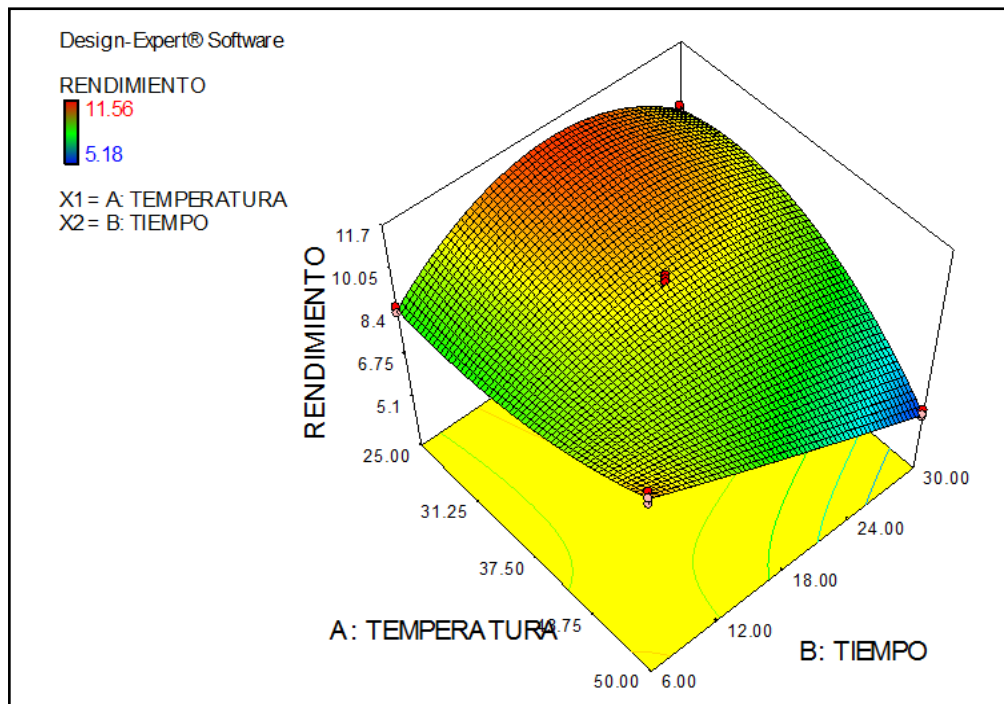
#### 4.2.2. ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO OBTENIDO DE ACEITE ESENCIAL EN LAS GRÁFICAS DE CONTORNO Y 3D

En la figura 9 y 10 se presenta la relación entre las variables independientes (temperatura y tiempo de ultrasonido) con respecto a la variable dependiente (rendimiento) mediante los gráficos de contorno y 3D de la superficie de respuesta que se generó por el modelo polinomial de tercer orden elegido.



**Figura 9. Gráfica de contorno de la temperatura vs tiempo, mostrando el porcentaje de rendimiento de extracción.**

Se puede apreciar en el Anexo 2 y en el gráfico de contorno, que la variable independiente A (temperatura) tiene un efecto significativo en la variable respuesta (rendimiento) ya que, al examinar la temperatura de 25°C se observa que al tiempo de 18 minutos (punto central)



**Figura 10. Gráfica en 3D de la temperatura versus tiempo, mostrando el porcentaje de rendimiento de extracción.**

se obtiene un gran rendimiento de aceite esencial con tendencia a incrementar si la temperatura disminuye, y cuando la temperatura va aumentando y alcanza los 50°C se observa que el rendimiento de aceite esencial disminuye, por ello la temperatura tiene un efecto negativo en la variable respuesta de acuerdo a la ecuación obtenida por el modelo polinomial de tercer orden. Con respecto, a la variable independiente B (tiempo) en la figura y en el anexo 3, se observa que su efecto es positivo en el rendimiento hasta cierto límite, pero no tan significativo como la variable independiente A, ya que a una temperatura constante de 25°C el rendimiento se incrementa de 6 a 18 minutos (punto central), obteniéndose un gran rendimiento de aceite esencial, pero luego disminuye al llegar al tiempo de 30 minutos. También, se puede observar que el rendimiento es mayor en la combinación de 25°C y 30 minutos comparados con 25 ° C y 6 minutos. Además, de lo mencionado se observa en la gráfica 3D que un mayor rendimiento se encuentra en la zona roja de la región experimental elegida donde se ubica la temperatura de 25°C y el tiempo de 18 minutos.

El rendimiento de aceite esencial es afectado por los parámetros de temperatura y el tiempo de ultrasonido por ello, es necesario controlarlos y determinar la mejor combinación que ayude a conseguir una extracción más efectiva obteniendo un mayor rendimiento. Según Dalla y Dellinghausen (2017), la temperatura del medio es un punto importante, ya que las altas temperaturas promueven la supresión del efecto sonoquímico, perjudicando la transmisión del ultrasonido como consecuencia de la gran cantidad de burbujas, asimismo indica que la degradación mínima de los compuestos químicos se relaciona principalmente con el bajo tiempo de sumisión de las plantas al calentamiento y a un aumento en la cinética de extracción. Asimismo, Peredo-Luna *et al.* (2009) dice que la composición del extracto y la cantidad de aceite esencial que se obtenga dependen de la temperatura a la que se realice el método, y el riesgo de degradación térmica se reduce cuando la extracción se realiza a una temperatura que no es demasiado alta. Para Belhachat *et al.* (2018), aumentar el tiempo de extracción da más tiempo para que los constituyentes del punto de ebullición más pesados y más altos se difundan fuera de las bolsas de aceite, lo que aumenta significativamente el rendimiento.

#### 4.2.3. ETAPA DE MAXIMIZACIÓN

Para la maximización de los parámetros de temperatura y tiempo de ultrasonido, es necesario realizar restricciones para lograr el máximo rendimiento en la región establecida. Por ello, en la Tabla 14 se presenta la mejor restricción de ambos parámetros y en la figura 11 se muestra la deseabilidad obtenida con respecto a la mejor combinación de los parámetros de temperatura y tiempo que dio el máximo rendimiento.

**Tabla 14. Cuadro de restricciones para la maximización, obtenido por la metodología de superficie de respuesta (RSM)**

<b>NOMBRE</b>	<b>CRITERIO</b>	<b>LIMITE INFERIOR</b>	<b>LIMITE SUPERIOR</b>
TEMPERATURA (°C)	En el rango	25	50
TIEMPO (min.)	En el rango	6	30
RENDIMIENTO (%)	máximo	5.18	11.56



De acuerdo a las restricciones elegidas de temperatura y tiempo de ultrasonido (Tabla 14), la mejor combinación de los parámetros para obtener el rendimiento máximo de aceite esencial de cáscara de naranja predicho por el modelo polinomial de tercer orden fue la siguiente: tiempo de 18.98 minutos y temperatura de 25°C de ultrasonido, obteniéndose un rendimiento de aceite esencial de 11.1975% con una deseabilidad de 0.943 (Figura 11 y Anexo 4), este valor cercano a 1 significa que la configuración escogida es efectiva para maximizar el rendimiento. Para facilitar el proceso de ultrasonido, la mejor condición se modificó de la siguiente manera: tiempo de 19 minutos y temperatura de 25°C de ultrasonido, se realizó tres pruebas experimentales para la validación y el rendimiento experimental real en estas condiciones fue del  $11.189 \pm 0.019\%$ , valor cercano al valor predicho del modelo.

Entre los valores obtenidos experimentalmente y el valor obtenido por el software no existe diferencias significativas con un p-valor  $> 0.05$  (Anexo 5), de acuerdo a la prueba realizada T-student. Asimismo, el modelo polinomial de tercer orden desarrollado para el rendimiento de aceite esencial extraído demostró un buen acuerdo entre los valores pronosticados y los valores reales con  $R^2$ -ajustado de 0.9891. El análisis de varianza ha demostrado que el tiempo y la temperatura de ultrasonido fueron los parámetros que influyen significativamente en el rendimiento. Por otro lado, a la temperatura es de 50°C y tiempo de 6 minutos se obtuvo una deseabilidad de 0.851, obteniéndose un rendimiento de 10.6062%, por ello se optó por no elegir esta combinación de variables en la maximización del rendimiento.

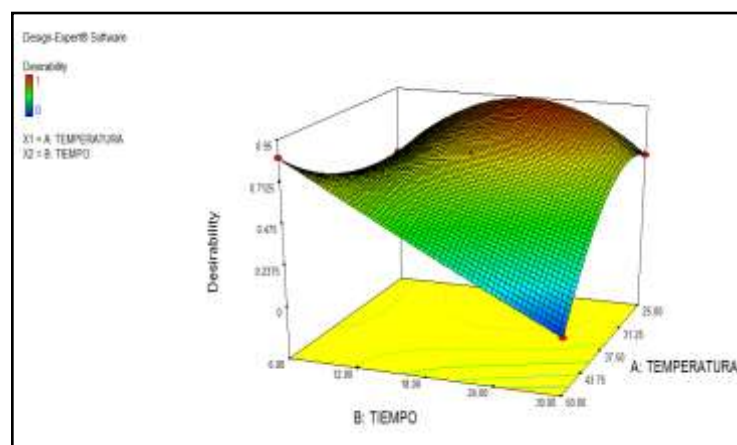


Figura 11. Gráfica en 3D de la deseabilidad con respecto a la temperatura y tiempo de ultrasonido

#### 4.3. COMPARACIÓN ENTRE LAS EXTRACCIONES: POR MICROONDAS, HIDRODESTILACIÓN Y MICROONDAS CON PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO

En la tabla 15, se muestra el rendimiento de aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) que se obtuvo por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido, por microondas y por el método de hidroddestilación (método convencional).

**Tabla 15. Rendimientos de aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) según método de extracción**

MÉTODO DE EXTRACCIÓN	VARIABLE RESPUESTA RENDIMIENTO %
EXTRACCIÓN POR MICROONDAS CON ULTRASONIDO	11.37 ± 0.251
EXTRACCIÓN POR MICROONDAS (540W, 25minutos)- ESTÁNDAR	6.98 ± 0.081
HIDRODESTILACIÓN	6.72 ± 0.252

Se observa que existe diferencias significativas aún nivel de significación del 95% (Anexo 6), en cuanto al rendimiento entre la extracción microondas + ultrasonido y la extracción por microondas y por hidroddestilación. No observándose diferencias significativas entre los rendimientos de la extracción por microondas (6.98 ± 0.081%) y la extracción por hidroddestilación (6.72 ± 0.252%). Sin embargo, la gran diferencia se encuentra en el tiempo de extracción, ya que con la extracción por microondas obtuvo 0.26% más en un tiempo de 25 minutos en comparación con la extracción de hidroddestilación en un tiempo de 90 minutos. Los resultados son similares a lo reportado por Ferhat *et al.* (2006), quienes obtuvieron un rendimiento (expresado en base seca) de 4.2 ± 0.02% con extracción por microondas y 3.9 ± 0.02% por hidroddestilación, indicando que fue mejor la extracción por microondas en términos de rendimiento, ahorro de energía y tiempo de extracción (30 min versus 3 h). Asimismo, Farhat *et al.* (2011), obtuvo un rendimiento (expresado en base

húmeda) de 1.54% por destilación de vapor con microondas y 1.51% por destilación de vapor. Por su parte Sahraoui *et al.* (2011), obtuvo un rendimiento (expresado en base seca) de  $5.43 \pm 0.03\%$  por destilación de vapor con microondas y  $5.45 \pm 0.04\%$  por destilación de vapor. Todas las investigaciones usaron cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck), pero con diferente potencia y tiempo de extracción. Por lo tanto, una de las ventajas de la extracción por microondas es la rapidez, y los resultados obtenidos explican la capacidad para acelerar la tasa de extracción por el rápido aumento de la temperatura que resulta de la ruptura de las células y las glándulas del material vegetal más rápidamente que el método convencional.

El rendimiento de aceite esencial obtenido expresado en base húmeda por microondas es  $2.03 \pm 0.081\%$  y por hidrodestilación es  $1.97 \pm 0.252\%$ , de acuerdo a los resultados de Bousbia *et al.* (2009), que obtuvo rendimientos expresados en base húmeda de  $1.0 \pm 0.1\%$  por microondas y  $1.1 \pm 0.1\%$  por hidrodestilación, se puede concluir que no hay diferencias notables entre ambos métodos.

Se obtuvo un aceite esencial transparente en la extracción por microondas y un aceite esencial no tan claro por hidrodestilación debido a los largos tiempos de extracción. Además, el equipo microondas en comparación al método tradicional por hidrodestilación es más limpio porque no requiere de solventes y el tiempo de extracción es más corto. Para Ferhat *et al.* (2007), las extracciones con largos periodos de tiempo y calentamiento excesivo afecta las propiedades organolépticas causando un tostado y menciona que la destilación acelerada por microondas o la destilación "seca" por microondas, conocida como "MAD" o "DryDist", es un nuevo método patentado para aislar aceites esenciales de productos naturales mediante la combinación de energía de microondas y destilación. Asimismo, para Ferhat *et al.* (2006), los principales beneficios de la extracción por microondas es la reducción del tiempo de extracción y que no es necesario el uso de solvente. Además, menciona que la extracción por microondas (MAD) usa el agua in situ dentro de las cáscaras de naranja y por medio del calentamiento distiende las glándulas y sacos del aceite esencial haciendo que las glándulas y los depósitos de aceite se rompan, liberando así el contenido de aceite esencial, que se evapora con el agua in situ del material vegetal y es condensado por el sistema de enfriamiento fuera del horno de microondas.

Se observó que hubo una gran cantidad de aceite esencial aplicando el ultrasonido antes de la extracción por microondas el cual fue de  $11.37 \pm 0.251\%$  , que fue casi el doble de lo obtenido en los métodos de hidrodestilación ( $6.72 \pm 0.252\%$ ) y microondas sin pretratamiento ( $6.98 \pm 0.081\%$ ) , esto se debe a que el ultrasonido es una técnica no convencional que permite que se libere el aceite esencial de manera más rápida, por ello los parámetros de temperatura y tiempo de ultrasonido se deben controlar. La combinación correcta de estos dos parámetros conducirá a cambios en el material vegetal, aumentando así la cantidad de aceites esenciales. La manera en que el ultrasonido causa un aumento en el rendimiento es explicada por Chemat *et al.* (2011), quién menciona que el ultrasonido hace uso de fenómenos físicos y químicos que son fundamentalmente diferentes en comparación con los aplicados en las técnicas convencionales de extracción y ofrece una ventaja en términos de rendimiento, con un mejor tiempo de procesamiento, calidad mejorada y es respetuoso con el medio ambiente. Asimismo, menciona que en la etapa de ultrasonido se da una sucesión de fases de rarefacción y compresión en el medio, creándose huecos por las burbujas de cavitación que crecen en la primera fase y disminuyen su tamaño en la segunda fase alcanzando el punto crítico donde colapsan, obteniéndose de esta manera gran cantidad de energía y puntos calientes en el medio que destruyen las paredes celulares de la planta de manera rápida. Por su parte Damyeh *et al.* (2016), menciona que el inicio del proceso de extracción se da más rápido cuando se aplica ultrasonido, porque se genera el fenómeno de cavitación producido por la generación y la posterior destrucción de las burbujas. También, Zaixiang *et al.* (2018), menciona que para mejorar los fenómenos de transferencia de masa uno de los métodos que se han utilizado más es el ultrasonido ya que al aplicar la sonoquímica reduce el tiempo de extracción, ahorra energía y aumenta el rendimiento. Asimismo, indica que el acoplamiento con el microondas provocará fuertemente que salga el aceite esencial acelerando el proceso de extracción. Por su parte Chan *et al.* (2011), menciona que las ondas ultrasónicas adicionales en combinación con las ondas de microondas intensifican el mecanismo de transferencia de masa puesto que, proporcionan un alto impulso y energía para romper la célula de la planta y liberar los compuestos activos al disolvente de extracción dando como resultado un tiempo reducido.

#### 4.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE NARANJA OBTENIDO POR LOS TRES MÉTODOS

En la tabla 16, se aprecian las características fisicoquímicas de los aceites esenciales obtenidos de la cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) que se extrajeron por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido, por microondas sin ultrasonido y por el método de hidrodestilación (método convencional).

**Tabla 16. Características fisicoquímicas del aceite esencial de cáscara de naranja Valencia**

PROPIEDAD	EXTRACCIÓN POR MICROONDAS	HIDRODESTILACIÓN	EXTRACCIÓN POR MICROONDAS CON PRETRATAMIENTO DE ULTRASONIDO
GRAVEDAD ESPECÍFICA	$0.868 \pm 0.0019$	$0.848 \pm 0.0045$	$0.862 \pm 0.0015$
ÍNDICE DE REFRACCIÓN 20°C	$1.4724 \pm 0.0002$	$1.4718 \pm 0.0002$	$1.4720 \pm 0.0002$
SOLUBILIDAD EN ALCOHOL			
(96°)	soluble 1:1	soluble 1:1	soluble 1:1
(90°)	soluble 1:7	soluble 1:9	soluble 1:7
(80°)	No soluble	No soluble	No soluble
(70°)	No soluble	No soluble	No soluble
RESIDUOS POR EVAPORACIÓN	$3.1 \pm 0.02\%$	$3.3 \pm 0.02\%$	$2.8 \pm 0.02\%$

Como se puede observar, se obtuvo  $0.868 \pm 0.0019$  de gravedad específica por microondas,  $0.848 \pm 0.0045$  por hidrodestilación y  $0.862 \pm 0.0015$  por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido. Ferhat *et al.* (2006), obtuvo 0.860 y Sahraoui *et al.* (2011) obtuvo  $0.860 \pm 0.043$  de gravedad específica aplicando la extracción por microondas. Por su parte, Reátegui (2005), menciona que para el método de hidrodestilación la gravedad específica del aceite esencial debe encontrarse en el rango de 0.842-0.846. Asimismo, Horna (2015) reportó un valor de 0.8424 y Quiroz (2009) un rango entre 0.84-0.85. Por lo tanto, los valores obtenidos se asemejan a los valores encontrados en la literatura.

Se obtuvo  $1.4724 \pm 0.0002$  de índice de refracción para la extracción por microondas,  $1.4718 \pm 0.0002$  para la extracción por hidrodestilación y  $1.4720 \pm 0.0002$  para la extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido, presentados en la tabla 16. Reátegui (2005), reporta valores de índice de refracción entre 1.4723-1.4737 a 20°C y Horna (2015), 1.472 a 20°C para el aceite esencial de cáscara de naranja. Los valores de índice de refracción encontrados en la literatura se acercan a los valores obtenidos por los tres métodos de extracción. Cabe indicar que el índice de refracción es una constante física utilizada para identificar y detectar impurezas en aceites esenciales. Por ello, este parámetro puede mostrar que hay un cuerpo extraño (Fontenla, 2006).

Fontenla (2006), indica una relación entre la gravedad específica y el índice de refracción, donde señala que una gravedad específica menor a 0.9 y un índice de refracción mayor a 1.47 contiene muchos hidrocarburos aromáticos. En el análisis fisicoquímico del aceite esencial obtenido por extracción de microondas con pre-tratamiento de ultrasonido, se obtuvo  $0.862 \pm 0.0015$  de gravedad específica y  $1.4720 \pm 0.0002$  de índice de refracción (Tabla 16), obteniéndose en el análisis de GC-MS una mayor cantidad de hidrocarburos aromáticos como el Limoneno, en comparación a los compuestos oxigenados. Este resultado se aprecia en la Tabla 17.

La Tabla 16 muestra que, para los tres métodos de extracción, los aceites esenciales son solubles en etanol a 90° y 96°, pero no solubles a 70° y 80°. Ferhat *et al.* (2006), menciona que al ser extraído el aceite esencial por microondas da la posibilidad de una mejor reproducción de aromas que al extraerse por hidrodestilado. Los datos muestran que es menos soluble el aceite esencial obtenido por el método de hidrodestilación en comparación al método por microondas y aplicando ultrasonido, sin embargo, la diferencia no es grande para los tres métodos de extracción. Para Fontenla (2006), la solubilidad de los aceites esenciales en etanol indica la presencia de compuestos hidrofílicos que contienen oxígeno. Además, demuestra la capacidad de utilizar aceites esenciales en la industria de fragancias.

Con respecto a los residuos por vaporación, se obtuvo  $3.1 \pm 0.02\%$  por la extracción con microondas,  $3.3 \pm 0.02\%$  por hidrodestilación y  $2.8 \pm 0.02\%$  por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido. Los resultados de residuos por evaporación del aceite esencial por los tres métodos están dentro del rango 2-4.5% que menciona Quiroz (2009) para naranja

valencia *citrus sinensis* L. Osbeck. Albaladejo (1999), asimismo menciona que los componentes no volátiles de los aceites esenciales suelen estar compuestos por ceras, parafinas, cumarinas, furanocumarinas y componentes de alto peso molecular. Estos componentes están relacionados con el tiempo de contacto del aceite con la corteza durante el proceso de expresión, ya que con el paso del tiempo aumenta más el material de desecho. Asimismo, menciona que los valores anormalmente altos podrían indicar una contaminación con aceites de diverso origen, por el contrario, valores muy bajos determinarían una mayor presencia de terpenos.

#### 4.5. ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL

En la tabla 17 y Anexo 7, se muestran los resultados de la cromatografía del aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) que se extrajo utilizando las variables independientes máximas de temperatura (25°C) y tiempo (19 minutos) de ultrasonido, a una potencia de 540W de microondas por 25 minutos.

**Tabla 17. Composición química del aceite esencial de cáscara de naranja valencia (*citrus sinensis* l. osbeck) obtenido por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido**

NÚMERO	NOMBRE DEL COMPUESTO (NIST08.L)	T <sub>R</sub> (MIN)	% EN LA MUESTRA (ÁREAS RELATIVAS)
1	9-Octadecenal	8.18	0.15
2	$\alpha$ -Pino	13.38	0.43
3	Sabineno	14.64	0.29
4	$\beta$ -Mirceno	15.02	1.93
5	Octanal	15.48	0.22

<<Continuación>>

6	$\delta$ -3-Careno	15.82	0.13
7	Limoneno	16.52	94.87
8	$\beta$ -Tujeno	16.60	0.37
9	$\beta$ -Linalool	18.60	1.03
10	$\beta$ -Citral	23.68	0.06
11	Otros compuestos	-	0.52

Se observa que el hidrocarburo monoterpénico Limoneno, es el componente más abundante en la composición del aceite esencial, presente en 94.87%, seguido por el  $\beta$ -mirceno con 1.93%. Con respecto a los monoterpenos oxigenados, el  $\beta$ -linalool es el que se encuentra en mayor cantidad y está presente en 1.03%. Para el método de hidrodestilación se aplicó la metodología de Bousbia *et al.* (2009), quién obtuvo 95.48% de Limoneno en el aceite esencial de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) (Anexo 8), asimismo Sahraoui *et al.* (2011) y Farhat *et al.* (2011), obtuvieron una cantidad similar de 95.6% y 95.03% de Limoneno respectivamente. Sin embargo, la diferencia en la cantidad presente de limoneno no es tan significativa entre la extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido y por hidrodestilación presentada por los tres autores. Para Bousbia *et al.* (2009), Sahraoui *et al.* (2011), Ferhat *et al.* (2006) y Farhat *et al.* (2011), el  $\beta$ -mirceno es el segundo componente mayoritario después del Limoneno para el aceite esencial de naranja Valencia. Asimismo, para los mismos autores el Linalool es el monoterpeno oxigenado en mayor proporción, al igual que los resultados obtenidos.

Comparando la cantidad obtenida de compuestos oxigenados (1.98%) con el resultado obtenido por Bousbia *et al.* (2009), quién obtuvo 1.40% por microondas y 0.84% por hidrodestilación, se observa que con el método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido se obtiene mayor cantidad de estos compuestos oxigenados que presentan la capacidad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial. Asimismo, se observa que el autor obtiene por hidrodestilación una menor proporción de compuestos oxigenados que por el método de microondas. Nora y Borges (2017), por su parte mencionan que los aceites esenciales son poco estables a altas temperaturas (hidrodestilación) ya que se observan pérdidas de rendimiento y reacciones de degradación, disminuyendo la calidad del



aceite esencial. Nuevamente, indica que la composición química del aceite esencial es compleja y se atribuye a sus principales constituyentes, y que el potencial antioxidante y antimicrobiano se relacione con la obtención de extractos con alto contenido de compuestos fenólicos, aldehídos y alcoholes, y bajo contenido de terpenos insaturados. Considerando que la calidad del aceite esencial se relaciona con su composición química es necesario elegir el mejor método de extracción que no influya negativamente en la composición y que logre obtener los compuestos principales y de interés en el aceite esencial.

La proporción presente de cada familia química ha sido diferente en los resultados obtenidos por GC-MS comparado a la literatura, sin embargo, se obtuvo los mismos componentes principales en el aceite esencial de naranja Valencia, el Limoneno y el  $\beta$ -mirreno como monoterpeno en mayor cantidad y  $\beta$ -linalool como monoterpeno oxigenado. Lo mencionado se debe a que la composición química de los aceites esenciales cambia debido a múltiples factores según lo que indica Fontenla (2006), donde menciona que la composición del aceite esencial se ve afectado principalmente por el grado de madurez de la especie utilizada, ya que, los tejidos jóvenes, debido a su intensa síntesis, son los que mejor reflejan los efectos del ambiente. Asimismo, agrega que la ubicación geográfica puede afectar la composición y la cantidad del aceite debido a factores como tipo de suelo, altitud, intensidad de luz solar, precipitación y temperatura. También, debe tenerse en cuenta que los experimentos con plantas en condiciones de bajo sombra y sin sombra han demostrado que la luz favorece la formación de aceite esencial.

En el aceite esencial la fracción oxigenada total fue de 1.98% y los hidrocarburos monoterpénicos 98.02% (Tabla 17). Ferhat *et al.* (2006), consiguió una mayor cantidad de compuestos oxigenados por el método de microondas comparado al método por hidrodestilación en el aceite esencial de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) e indica que los hidrocarburos monoterpénicos son menos valiosos que los compuestos oxigenados en términos de su contribución a la fragancia del aceite esencial. Por consiguiente, los compuestos oxigenados son altamente odoríferos y los más valiosos. Asimismo, Ferhat *et al.* (2007) indica que la extracción por microondas logra una mayor proporción de compuestos oxigenados en los aceites esenciales debido a la disminución de los efectos térmicos e hidrolíticos, en comparación con la hidrodestilación, que utiliza una gran cantidad de agua y consume mucho tiempo y energía. Por su parte, Bousbia *et al.* (2009) (Anexo 8)

y Ferhat *et al.* (2007) obtuvieron un resultado similar ya que, la cantidad de compuestos oxigenados fue mayor por microondas con respecto a hidrodestilación.

En el análisis cromatográfico con espectrometría de masas se obtuvo 94.87% de limoneno, este resultado está dentro del rango obtenido por Bustamante *et al.* (2016), donde indica que el D-limoneno es el principal componente en los aceites esenciales de cáscara de naranja, y es un monoterpeno no oxigenado que constituye entre el 90 y 95%. Además, también son mezclas de terpenos y derivados oxigenados como aldehídos (citral), alcoholes y ésteres.

## V. CONCLUSIONES

1. El ultrasonido como tratamiento previo incrementa el rendimiento de extracción y no afecta las propiedades fisicoquímicas para el aceite esencial de cáscara de naranja.
2. La extracción por microondas es un método verde para la extracción de aceite esencial que no necesita del uso de solventes comparado al método de hidrodestilación.
3. La combinación de la temperatura con el tiempo de ultrasonido tiene un efecto positivo y significativo en el rendimiento con un  $R^2$ -ajustado de 0.9891, utilizando un modelo polinomial de tercer orden.
4. El pre-tratamiento de ultrasonido que logró mayor rendimiento de aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fue 25°C con 19 minutos, obteniéndose  $11.189 \pm 0.019\%$  de aceite esencial, dentro del región experimental que se ha trabajado.
5. Se obtuvo  $6.98 \pm 0.081\%$  en 25 minutos de extracción por microondas y  $6.72 \pm 0.252\%$  en 90 minutos por hidrodestilación, donde no se encontró diferencias notables en el rendimiento de aceite esencial entre ambas técnicas, siendo la diferencia significativa el tiempo de extracción.
6. En la GC-MS del método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido se identificaron 15 compuestos, obteniéndose 94.87% de limoneno como hidrocarburo monoterpénico y 1.03% de  $\beta$ -Linalool como monoterpeno oxigenado más abundante en el aceite esencial de cáscara de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck).

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar un estudio de la capacidad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido con el método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido.
- Realizar un estudio de obtención del aceite esencial con el método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido a nivel industrial.
- Realizar un estudio comparativo del método por arrastre con vapor y el método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido, ya que el método por arrastre por vapor es el más utilizado a escala industrial.
- Realizar una microscopía electrónica de barrido (SEM) de la cáscara de naranja antes y después de ser sometida al método por hidrodestilación y al método de extracción por microondas con pre-tratamiento de ultrasonido.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Albaladejo, Q. (1999). El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales (Tesis doctoral). Universidad de Murcia. España. Recuperada de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/11059/Albaladejo.pdf>
- Amador, R.; García, J.; Hernández, J. (2012). Industrialización de la cáscara de naranja (Tesis para obtener el título de ingeniero químico, Universidad Autónoma Metropolitana). Recuperada de <https://docplayer.es/97873277-Universidad-autonoma-metropolitana-industrializacion-de-la-cascara-de-naranja.html>.
- A.O.A.C. (2000). The Association of Analytical Chemists: Official methods of analysis. 16th edition. Washington. U.S.A. page 1319.
- Armas, A.; Costa, A. (2011). Diseño de una planta modular para la elaboración de licor de naranja en el Cantón Caluma (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral). Recuperada de <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21112/1/tesis%20completa%20aarmas2301.pdf>.
- Azuola, R.; Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). Revista Tecnología en Marcha, 20 (4). Recuperada de [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/449](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/449)
- Belhachat, D.; Mekimene, L.; Belhachat, M.; Ferradji, A.; Fatiha, A. (2018). Application of response surface methodology to optimize the extraction of essential oil from ripe berries of *Pistacia lentiscus* using ultrasonic pretreatment. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 9:132-140. doi: 10.1016/j.jarmap.2018.04.003

- Bousbia, N.; Abert, M.; Ferhat, M.; Meklati, B.; Chemat, F. (2009). A new process for extraction of essential oil from citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90:409- 413. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.06.034
- Bustamante, J.; Stempvoort, S.; García-Gallarreta, M.; Houghton, J.; Briers, H.; Budarin, V.; Matharu, A. y Clark, J. (2016). Microwave assisted hydro-distillation of essential oils from wet citrus peel waste. *Journal of Cleaner Production*, 137:598-605. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.07.108
- Caballero, Y.; Rodríguez, M. (2014). Obtención de aceites esenciales a partir de cáscara de mango (*Mangifera indica L.*) mediante técnica de destilación por arrastre de vapor (Tesis para obtener el título de ingeniero químico, Universidad de San Buenaventura). Recuperada: [http://bibliotecadigital.usb.edu.co:8080/bitstream/10819/2599/1/Obtenci%C3%B3n%20de%20aceites%20esenciales%20a%20partir%20de%20c%C3%A1scara%20de%20mango\\_Yohasky%20Caballero\\_USBCTG\\_2015.pdf](http://bibliotecadigital.usb.edu.co:8080/bitstream/10819/2599/1/Obtenci%C3%B3n%20de%20aceites%20esenciales%20a%20partir%20de%20c%C3%A1scara%20de%20mango_Yohasky%20Caballero_USBCTG_2015.pdf).
- Calabro, P.; Paone, E.; Komilis, D. (2018). Strategies for the sustainable management of orange peel waste through anaerobic digestion. *Journal of Environmental Management*, 212:462-468. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.02.039
- Chan, C.; Yusoff, R.; Ngoh, G.; Kung, F. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, 1218:6213-6225. doi: 10.1016/j.chroma.2011.07.040
- Centro de estudios Estudios Estratégicos del Sistema ITESM, (1994). Análisis estratégico de los agrupamientos industriales de sectores clave del estado de Tabasco- Industria citrícola (limón y naranja). Nuevo león. México. Editorial tabasco. Recuperado de [https://repositorio.tec.mx/bitstream/handle/11285/574886/DocsTec\\_5.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.tec.mx/bitstream/handle/11285/574886/DocsTec_5.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Cerutti, M.; Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención d aceite esencial de limón. Revista Invenio, 7(12):149-155. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/877/87701214.pdf>
- Chemat, F.; Huma, Z.; Kamran, M. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. Ultrasonics Sonochemistry. 18:813-835. doi: 10.1016/j.ultsonch.2010.11.023
- Contreras, V. (2010). Implementación a nivel laboratorio de una unidad de extracción de volátiles por radiación de microondas (Tesis para obtener el título de ingeniero químico, Instituto Tecnológico de Durango). Recuperado de: <http://tecno.cruzfierro.com/residencias/05041240-contreras-residencia.pdf>.
- Dalla, F.; Dellinghausen, C. (2017). Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction. Ciencia Rural, 47(9):1-9. doi: 10.1590/0103-8478cr20170173
- Damyeh, M.; Niakousari, M.; Saharkhis, M. (2016). Ultrasound pretreatment impact on Prangos ferulacea Lindl. And Saturejamacrosiphonia Bornm. Essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties. Industrial Crops and Products, 87:105-115. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.04.025
- Díaz, J. (2002). Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto Alexander Von Humboldt-Biocomercio Sostenible. Bogotá. Editorial Humbolt. Recuperado de [http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/9356/Biocomercio\\_6.pdf](http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/9356/Biocomercio_6.pdf)
- Durán, R.; Villa, A.; Montes, C.; Peláez, C. (2012). Aceite esencial obtenido de cáscaras de naranja en diferentes estados de madurez de dos cultivos en el municipio de Chimichagua. Revista alimentos hoy, 21(26). Recuperado de <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/122/116>

- Ferhat, M.; Meklati, B.; Smadja, J.; Chemat, F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112:121-126. doi: 10.1016/j.chroma.2005.12.030
- Ferhat, M.; Meklati, B.; Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave ‘dry’ distillation. *Flavour Fragrance Journal*, 22:494-504. doi: 10.1002/ffj.1829
- Farhat, A.; Tixier, A.; Maataoui, M.; Maingonnat, J.; Romdhane, M.; Chemat, F. (2011). Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract’s global yield and mechanism. *Food Chemistry*, 125:255-261. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.110
- Fontenla, (2006). Caracterización del aceite esencial de “Lanche” (*Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K) Mc Vaugh) proveniente del distrito de Chalaco, provincia de Morropón – Piura, obtenido por dos métodos de destilación (Tesis para optar el título de Ingeniero Forestal, Universidad Nacional Agraria La Molina). Lima. Perú. Recuperado de <https://library.co/document/zgg6de2z-caracterizacion-myrcianthes-rhopaloides-proveniente-distrito-provincia-morropon-destilacion.html>
- Franco-Vega, A.; Ramírez-Corona, N.; Palou, E.; López-Malo, A. (2015). Estimation of mass transfer coefficients of the extraction process of essential oil from orange peel using microwave assisted extraction. *Journal of Food Engineering*, 1-8. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.09.025
- Golmakani, M. y Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydro-distillation with the traditional hydro-distillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109:925-930. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.084



- Gómez, A.; Schwentesius, R. (2008). La Agroindustria de naranja en México. Universidad de Texas. Chapingo. México. Recuperado de <http://www.conciver.com/archivosenpdf/naranjaisuindustria.pdf>
- Gutiérrez, M. (2008). Caracterización e Identificación de componentes del aceite esencial de cedron (*Aloysia triphylla*) (Tesis para optar el grado de Magister Scientiae, Universidad Nacional Agraria La Molina). Lima. Perú.
- Gutiérrez, M.; Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes del mal olor. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona. España. 122(4):35-49. Recuperado de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/2733/5CROMGASES.pdf>
- Horna, C. (2015). Estudio comparativo y evaluación del rendimiento de dos tecnologías de extracción de aceites esenciales de naranja, mandarina, tangelo (Tesis para optar el título de Ingeniero Industrial y Comercial, Universidad ESAN). Lima. Perú. Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.12640/666>
- Khan, E., X. Fu, J. Wang, Q. Fan, X. Huang, G. Zhang, J. Shi y J. Liu. (2008). Regeneration and characterization of plants derived from leaf in vitro culture of two sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 120:70-76. doi: 10.1016/j.scienta.2008.10.004
- Luna, H. (2007). Obtención, caracterización y estudio de la desterpenación del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) (Tesis para optar el título de Ingeniero, Universidad Industrial de Santander). Bucaramanga. Colombia. Recuperado de [https://issuu.com/maosabo/docs/propuesta\\_anteproyecto\\_monografia](https://issuu.com/maosabo/docs/propuesta_anteproyecto_monografia)
- Martínez, A. (2001). Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía. Medellín. Colombia. Recuperado de [http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA\\_esencias2001b.pdf](http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf)

- Martínez, H. (2005). La cadena de cítricos de Colombia. Ministerio de Agricultura. Y Desarrollo Rural. Bogotá. Colombia. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11348/6323>
- Martins, A. (2005). Isolation and Structure elucidation of sesquiterpenoids from the essential oils of some liverworts (Tesis of grade, University of Hamburg). Hamburg. Recuperado de <https://d-nb.info/974207071/34>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (1995). Industrialización de la naranja. Asociación Cooperativa de la Reforma Agraria La Argentina de R.L. San Salvador. República del Salvador. Editorial IICA. Recuperado de <http://repiica.iica.int/docs/B1580E/B1580E.PDF>
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2018). Anuario estadístico de producción agrícola 2018. Edición Agosto 2019. Lima. Perú. Recuperado de <https://siea.midagri.gob.pe/portal/publicaciones/datosestadisticas/anuarios/category/26-produccion-agricola>
- Mnaye, D.; Sylvie, A.; Petitcolas, E.; Ruiz, K.; Hamieh, T.; Chemat, F. 2017. Extraction of green absolute from thyme using ultrasound and sunflower oil. *Resource-Efficient Technologies*, 3:12-21. doi: 10.1016/j.reffit.2017.01.007
- Nora, F.; Borges, C. (2017). Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction. *Ciencia Rural, Santa Maria*,47(9). doi: 10.1590/0103-8478cr20170173
- Okoh, O.; Sadimenko, A.; Afolayan, A. (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 120(1):308-312. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.084
- Peredo-Luna, H.; Palou-García, E.; López-Malo, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. Universidad de las Américas. Puebla. México. Página 24-32. Recuperado de

[https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)

Prasad, K.N.; Hassan, F.A.; Yang, B.; Kong, W.; Ramanan, R.N; Azlan, A.; Ismail, A. (2011). Response surface optimization for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilized *Mangifera pajang* Kosterm. *Food Chemistry*, 128(4):1121-1127. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03.105

Pingret, D.; Tixier, A.; Chemat, F. (2014). An improved Ultrasound Clevenger for extraction of essential oils. *Food Analytical Methods*, 7(1):9-12. doi: 10.1007/s12161-013-9581-0

Quiroz, A. (2009). Utilización de residuos de cáscara de naranja para la preparación de un desengrasante doméstico e industrial (Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental). Quito. Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.uisek.edu.ec/123456789/407>

Reátegui, L. (2005). Hidroextracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara de naranja (Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Lima. Perú. Recuperado de [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3329/Reategui\\_dl.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3329/Reategui_dl.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Sahraoui, N.; Vian, M.; Maataoui, M.; Boutekedjiret, C.; Chemat, F. (2011). Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(2):163-170. doi:10.1016/j.ifset.2011.02.002

Tan, Q.; Kieu, X.; Kim, N.; Hong, X. (2012). Application of response surface methodology (RSM) in condition optimization for essential oil production from citrus latifolia. *Emirates Journal of food & agriculture*, 24(1):25-30. doi: 10.9755/ejfa.v24i1.10595

Tongnuanchan, P.; Soottawat B. (2014). Essential oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 9(7). doi: 10.1111/1750-3841.12492

Tovar, A.; Godínez, L.; Espejel, F.; Ramírez, R.; Robles, I. (2019). Optimization of the integral valorization process for orange peel waste using a design of experiments approach: Production of high-quality pectin and activated carbon. *Waste Management*, 85:202-213. doi: 10.1016/j.wasman.2018.12.029

Valdez, V. (2017). Optimización del rendimiento y determinación del contenido de limoneno del aceite esencial de flavedo de mandarina (Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Industrial y Comercial, Universidad San Ignacio de Loyola). Lima. Perú. Recuperado de <https://repositorio.usil.edu.pe/handle/usil/2783>

Velázquez, M. (2010). Acción antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja, aplicado por adición directa o por generación de vapores (Tesis para optar el Título profesional de Ingeniero de Alimentos, Universidad de las Américas Puebla). Puebla. México. Recuperado de [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lia/velazquez\\_n\\_mj/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/velazquez_n_mj/)

Yáñez, X.; Lugo, L.; Parada, D. (2007). Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *Universidad de Pamplona*. Volumen 5. Número 1. Santander. Colombia. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90350101>

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA TUKEY (STATGRAPHICS) PARA COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS

#### PRIMERO: Resumen de análisis

---

<b>ANOVA SIMPLE- RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO</b>	
Variable dependiente	Rendimientos
Factor	Tratamientos
Número de observaciones	33
Número de niveles	11

---

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para Rendimiento. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de Rendimiento para los 11 diferentes niveles de Tratamiento. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias.

---

#### SEGUNDO: Análisis estadístico

---

<b>TABLA ANOVA PARA RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO</b>					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón F	Valor-P
Entre grupos	98.9157	10	9.89157	267.01	0.0000
Intra grupos	0.815	22	0.0370455		
Total (Corr.)	99.7307	32			

---

La tabla ANOVA descompone la varianza de Rendimiento en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 267.012, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Rendimiento entre un nivel de Tratamiento y otro, con un nivel del 5% de significación.

---

#### TERCERO: Tabla ANOVA

## Pruebas de Múltiple Rangos para Rendimiento por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

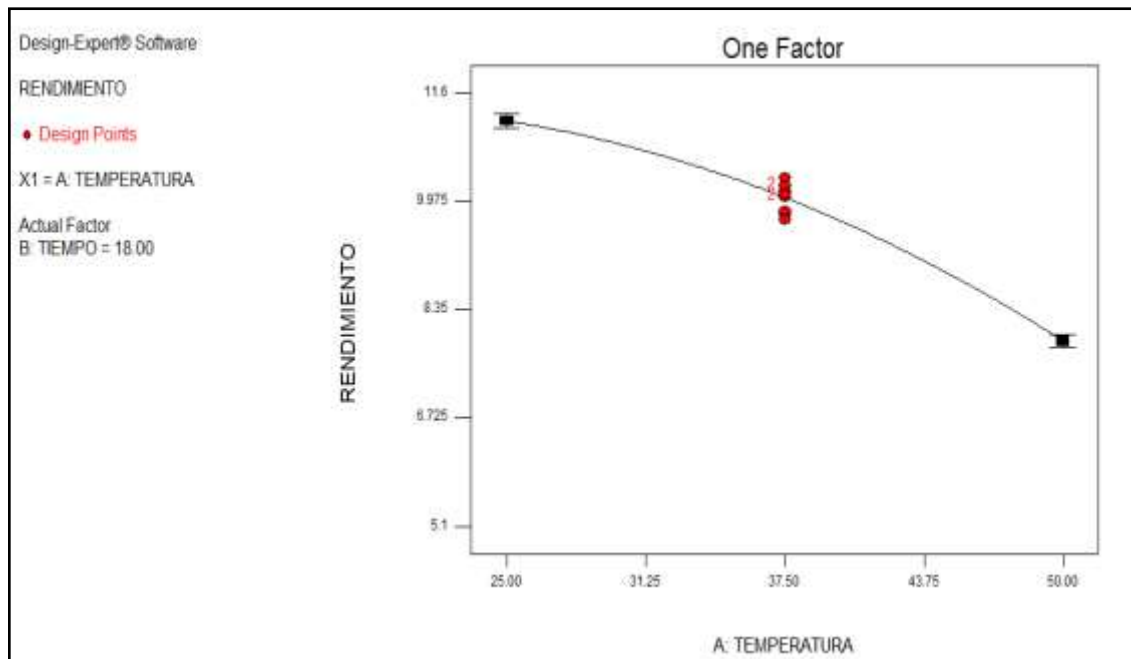
Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T10	3	5.30333	X
T11	3	6.7	X
T4	3	7.71667	X
T8	3	8.08	XX
T2	3	8.62	X
T3	3	9.33667	X
T6	3	9.98	X
T7	3	9.99667	X
T5	3	10.12	XX
T9	3	10.6067	X
T1	3	11.3667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T1 - T10	*	6.06333	0.56192
T1 - T11	*	4.66667	0.56192
T1 - T2	*	2.74667	0.56192
T1 - T3	*	2.03	0.56192
T1 - T4	*	3.65	0.56192
T1 - T5	*	1.24667	0.56192
T1 - T6	*	1.38667	0.56192
T1 - T7	*	1.37	0.56192
T1 - T8	*	3.28667	0.56192
T1 - T9	*	0.76	0.56192
T10 - T11	*	-1.39667	0.56192
T10 - T2	*	-3.31667	0.56192
T10 - T3	*	-4.03333	0.56192
T10 - T4	*	-2.41333	0.56192
T10 - T5	*	-4.81667	0.56192
T10 - T6	*	-4.67667	0.56192
T10 - T7	*	-4.69333	0.56192
T10 - T8	*	-2.77667	0.56192
T10 - T9	*	-5.30333	0.56192
T11 - T2	*	-1.92	0.56192
T11 - T3	*	-2.63667	0.56192
T11 - T4	*	-1.01667	0.56192
T11 - T5	*	-3.42	0.56192
T11 - T6	*	-3.28	0.56192
T11 - T7	*	-3.29667	0.56192
T11 - T8	*	-1.38	0.56192
T11 - T9	*	-3.90667	0.56192

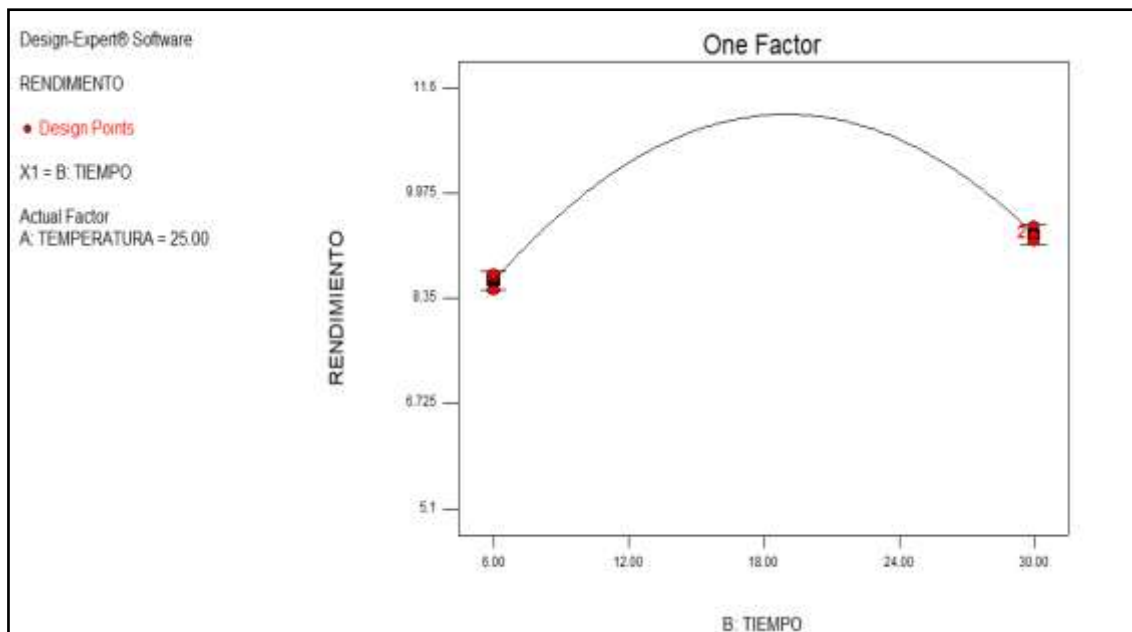
T2 - T3	*	-0.716667	0.56192
T2 - T4	*	0.903333	0.56192
T2 - T5	*	-1.5	0.56192
T2 - T6	*	-1.36	0.56192
T2 - T7	*	-1.37667	0.56192
T2 - T8		0.54	0.56192
T2 - T9	*	-1.98667	0.56192
T3 - T4	*	1.62	0.56192
T3 - T5	*	-0.783333	0.56192
T3 - T6	*	-0.643333	0.56192
T3 - T7	*	-0.66	0.56192
T3 - T8	*	1.25667	0.56192
T3 - T9	*	-1.27	0.56192
T4 - T5	*	-2.40333	0.56192
T4 - T6	*	-2.26333	0.56192
T4 - T7	*	-2.28	0.56192
T4 - T8		-0.363333	0.56192
T4 - T9	*	-2.89	0.56192
T5 - T6		0.14	0.56192
T5 - T7		0.123333	0.56192
T5 - T8	*	2.04	0.56192
T5 - T9		-0.486667	0.56192
T6 - T7		-0.0166667	0.56192
T6 - T8	*	1.9	0.56192
T6 - T9	*	-0.626667	0.56192
T7 - T8	*	1.91667	0.56192
T7 - T9	*	-0.61	0.56192
T8 - T9	*	-2.52667	0.56192

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 2: EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL



## ANEXO 3: EFECTO DEL TIEMPO EN EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL



## ANEXO 4: MAXIMIZACIÓN DEL RENDIMIENTO

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
TEMPERATURA	is in range	25	50	1	1	3
TIEMPO	is in range	6	30	1	1	3
RENDIMIENTO	maximize	5.18	11.56	1	1	3

Number	TEMPERATURA	TIEMPO	RENDIMIENTO	Desirability	
1	<u>25.00</u>	<u>18.98</u>	<u>11.1975</u>	<u>0.943</u>	<u>Selected</u>
2	25.00	19.64	11.1907	0.942	
3	50.00	6.00	10.6062	0.851	

3 Solutions found

## ANEXO 5: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARACIÓN DE MEDIAS (STATGRAPHICS)

Resumen	Valor experimental	Valor software
Recuento	3	3
Promedio	11.189	11.1975
Desviación estándar	0.0196723	0
Coficiente de Variación	0.175818%	0%
Mínimo	11.171	11.1975
Máximo	11.21	11.1975
Rango	0.039	0
Sesgo estandarizado	0.473963	0

Esta tabla contiene el resumen estadístico para las dos muestras de datos. Pueden utilizarse otras opciones tabulares, dentro de este análisis, para evaluar si las diferencias entre los estadísticos de las dos muestras son estadísticamente significativas. De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar.



### Comparación de Medias

Intervalos de confianza del 95.0% para la media de A.Col\_1: 11.189 +/- 0.0488687 [11.1401, 11.2379]

Intervalos de confianza del 95.0% para la media de Col\_2: 11.1975 +/- 0 [11.1975, 11.1975]

Intervalos de confianza del 95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias

suponiendo varianzas iguales: -0.0085 +/- 0.0315345 [-0.0400345, 0.0230345]

### Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

suponiendo varianzas iguales: t = -0.748383 valor-P = 0.495833

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

### El StatAdvisor

Esta opción ejecuta una prueba-t para comparar las medias de las dos muestras. También construye los intervalos, ó cotas, de confianza para cada media y para la diferencia entre las medias. De interés particular es el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias, el cual se extiende desde -0.0400345 hasta 0.0230345. Puesto que el intervalo contiene el valor de 0, no hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras de datos, con un nivel de confianza del 95.0%.

También puede usarse una prueba-t para evaluar hipótesis específicas acerca de la diferencia entre las medias de las poblaciones de las cuales provienen las dos muestras. En este caso, la prueba se ha construido para determinar si la diferencia entre las dos medias es igual a 0.0 versus la hipótesis alterna de que la diferencia no es igual a 0.0. Puesto que el valor-P calculado no es menor que 0.05, no se puede rechazar la hipótesis nula.

## ANEXO 6: RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA TUKEY (STATGRAPHICS) PARA COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

### PRIMERO: Resumen de análisis

#### ANOVA SIMPLE- RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO

Variable dependiente	Rendimiento de aceite esencial
Factor	Método de extracción
Número de observaciones	9
Número de niveles	3

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL para los 3 diferentes niveles de METODO DE EXTRACCION. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

### SEGUNDO: Análisis estadístico

#### TABLA ANOVA PARA RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO

Fuente	Suma de cuadrados	de GL	Cuadrado Medio	Razón F	Valor-P
Entre grupos	40.9321	2	20.466	461.26	0.0000

Intra grupos	0.266217	6	0.0443694
Total (Corr.)	41.1983	8	

La tabla ANOVA descompone la varianza de RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 461.264, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL entre un nivel de METODO DE EXTRACCION y otro, con un nivel del 5% de significación.

### TERCERO: Tabla ANOVA

#### Pruebas de Múltiple Rangos para RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL por METODO DE EXTRACCION

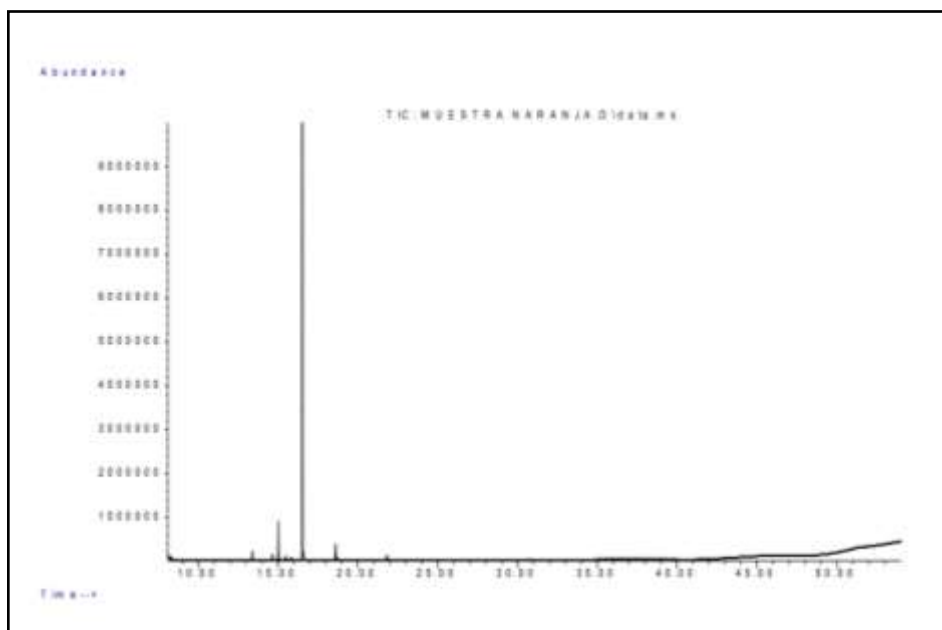
Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
HIDRODESTILACIÓN	3	6.72	X
MICROONDAS	3	6.98	X
MICROONDAS Y ULTRASONIDO	3	11.3683	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
HIDRODESTILACIÓN - MICROONDAS		-0.26	0.420839
HIDRODESTILACIÓN - MICROONDAS Y ULTRASONIDO	*	-4.64833	0.420839
MICROONDAS - MICROONDAS Y ULTRASONIDO	*	-4.38833	0.420839

\* indica una diferencia significativa.

### ANEXO 7: CROMATOGRAMA GC-MS DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA VALENCIA (CITRUS SINENSIS L. OSBECK) OBTENIDO POR MICROONDAS CON PRE-TRATAMIENTO DE ULTRASONIDO



FUENTE: Servicio prestado por la Universidad Peruana Cayetano Heredia

**ANEXO 8: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA VALENCIA (CITRUS SINENSIS L. OSBECK) OBTENIDO POR MICROONDAS E HIDRODESTILACIÓN**

<b>NÚMERO</b>	<b>NOMBRE DEL COMPUESTO</b>	<b>% EN LA MUESTRA POR MICROONDAS</b>	<b>% EN LA MUESTRA POR HIDRODESTILACIÓN</b>
<b>Monoterpenos</b>		<b>97.57</b>	<b>98.71</b>
1	Pinene<Alpha->	0.43	0.51
2	Pinene<Beta->	-	-
3	Myrcene<Beta->	1.64	1.85
4	Carene<Delta-3->	0.09	0.15
5	Limoneno	94.64	95.48
6	Terpinene<Gamma->	0.05	0.06
<b>Monoterpenos oxigenados</b>		<b>0.99</b>	<b>0.56</b>
7	Linalool	0.62	0.30
8	Citronellal	0.06	0.03
9	Terpin-4-ol	0.03	0.06
10	Terpineol<Alpha->	0.09	0.06
11	Nerol	-	-
12	Neral	0.05	0.03
13	Geraniol	-	-
14	Geranial	0.09	0.05
<b>Sesquiterpenos</b>		<b>0.11</b>	<b>0.12</b>
15	Elemene<Beta->	0.01	0.01
16	Caryophellene<E->	0.02	0.01
17	Bergamotene<Alpha-Trans->	-	-
18	Humulene<Alpha->	0.01	0.02
19	Farnesene<(E)-Beta->	-	-
20	Germacrene D	0.01	0.01
21	Valencene	0.02	0.04
22	Bisabolene<(Z)-Alpha->	-	-
23	Bisabolene(Beta-)	-	-
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>		<b>0.08</b>	<b>0.02</b>
24	Elemol	0.01	-
25	Nerolidol<E->	-	-
26	Bisabolol<Alpha->	-	-
27	Nootkatone	-	-
<b>Otros compuestos Oxigenados</b>		<b>0.33</b>	<b>0.26</b>
28	Nonanal<N->	0.01	0.03
29	Citronellyl Acetate	-	-
30	Neryl Acetate	-	-

<b>Total de compuestos oxigenados</b>	<b>1.40</b>	<b>0.84</b>
<b>Total de compuestos no oxigenados</b>	<b>98.83</b>	<b>98.68</b>

FUENTE: Bousbia *et al.* (2009)

## ANEXO 9: FOTOGRAFÍAS

### a) Procedencia de la naranja valencia *citrus sinensis L. Osbeck*

Chanchamayo - Junín



### b) Etapa de selección de la parte experimental

Cáscara con albedo seleccionada



Cáscara sin albedo seleccionada



**c) Etapa de trozado, pesado y empacado al vacío**

Trozado de la cáscara de naranja



Pesado de la cáscara de naranja



Empacado al vacío de la cáscara de naranja



**d) Etapa de ultrasonido de la parte experimental**

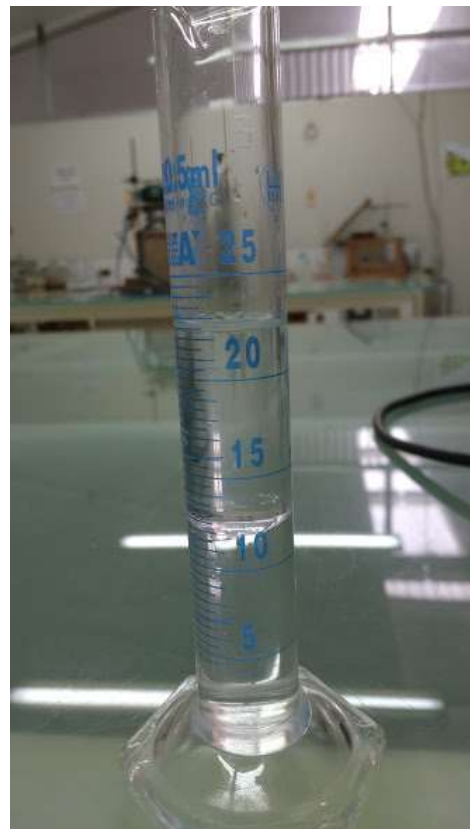
Ultrasonido de la cáscara de naranja



**e) Etapa de extracción por microondas de la parte experimental**

Extracción del aceite esencial

Aceite esencial obtenido



**f) Etapa de extracción por el método de hidrodestilación**

Extracción del aceite esencial por equipo Clevenger



**g) Muestras obtenidas de la parte experimental**

Aceite esencial en viales color ámbar

