



Aprovechamiento de desechos orgánicos: 1. Extracción y caracterización del aceite de semillas de naranja colectadas en expendios ambulantes de jugos

María Escalante¹, Iris Santos¹, Luis B. Rojas², Cristóbal Lárez Velásquez^{3*}

- 1) Laboratorio de Análisis Orgánico. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. ULA. Mérida 5101, Venezuela.
- 2) Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia y Bionanálisis. ULA, Mérida, Venezuela.
- 3) Laboratorio de Polímeros. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. ULA, Mérida 5101, Venezuela.

(* clarez@ula.ve)

Recibido: 14/06/2012

Revisado: 01/11/2012

Aceptado: 06/12/2012

Resumen

Se estudió la extracción con Soxhlet, usando n-hexano como solvente, del aceite de semillas de naranja procedentes de los residuos de desperdicios obtenidos en ventas ambulantes de jugos de la ciudad de Mérida, Venezuela. Se obtuvo un rendimiento del aceite de 5,1% (p/p) con relación a la masa inicial del residuo y de un 42,7% (p/p) con relación a las semillas secas. El aceite obtenido se sometió a un proceso de transesterificación con metanol, cuantificándose los componentes mayoritarios de la mezcla de metil-esteres por cromatografía de gases acoplada a masa (EG-EM), los cuales resultaron ser: linoleato (31±1%), oleato (31±1%), palmítato (30±3%) y estearato (7,1±0,5%). La mezcla de metil-esteres se sometió a una reacción de hidrólisis en medio alcalino, lográndose separar la mezcla de ácidos respectivos, la cual, luego de un proceso de precipitación en solución acuosa y de su re-cristalización en n-hexano generó una mezcla de ácidos con mayor contenido de ácidos insaturados.

Palabras clave: aceite de semillas de naranja; aprovechamiento de desechos orgánicos; ácidos insaturados; transesterificación

Abstract

The Soxhlet extraction, using n-hexane as solvent, of the orange seed oil from waste residues obtained in street sales of fruit juices of Merida, Venezuela, was studied. Yields of 5.1% oil (w/w) and 42.7% (w/w) relative to the initial mass of the residue and dry seeds, respectively, were obtained. The oil was subjected to a transesterification process with methanol and the main components of the mixture of methyl esters achieved were quantified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), which turned out to be: linoleate (31±1%), oleate (31±1%), palmitate (30±3%) and magnesium stearate (7.1±0.5%). The mixture of methyl esters was subjected to the hydrolysis reaction in aqueous alkaline medium yielding the respective acid mixture which, after a precipitation process in HCl aqueous solution and its re-crystallization in n-hexane, generated an acid mixture with a higher content of unsaturated acids.

Keywords: orange seed oil; exploitation of organic wastes; unsaturated acids; transesterification

Introducción

La generación de desechos antropogénicos en gran escala, y de diversa índole, es uno de los problemas más preocupantes de los tiempos actuales debido a que su acumulación en el planeta se hace cada vez menos sostenible. Muchos de estos residuos son de origen natural y pueden generar problemas adicionales a su transporte y manipulación, como por ejemplo la generación de malos olores y/o la propagación de microorganismos perjudiciales. Sin embargo, a lo largo del tiempo se han

venido generando diversas rutas para el aprovechamiento de estos recursos, como por ejemplo su conversión en abonos orgánicos¹, su incorporación en la formulación de alimentos para animales², su uso como materia prima para fabricar productos de mayor valor agregado³, etc. En este último caso, las perspectivas parecen infinitas a juzgar por la amplia gama de procesos que se desarrollan continuamente para el uso de tales desechos, los cuales van desde una transformación y uso con escaso procesamiento⁴ hasta el uso de procesos más o menos sofisticados⁵ para su transformación en materiales con mayor demanda.

Por otro lado, la naranja es uno de los frutos cítricos más comercializados e industrializados en el mundo. Los desechos generados de su procesamiento han sido aprovechados en múltiples aplicaciones, como por ejemplo en la complementación exitosa de alimentos para humanos^{6,7} y animales, incluyendo peces⁸, cerdos⁹, rumiantes¹⁰, etc.; producción de biopolímeros para la industria alimentaria como la pectina¹¹; obtención de aceites esenciales para uso en perfumería¹², etc. Otro de los aprovechamientos importantes de esta fruta cítrica es la extracción del aceite de sus semillas^{13,14}, el cual ha sido ampliamente comercializado en aplicaciones dermo-cosméticas por sus propiedades suavizantes que le generan un valor agregado importante.

En este trabajo se presentan los resultados de la extracción, cuantificación y caracterización del aceite extraído de semillas de naranja obtenidas de desechos del procesamiento de las frutas en establecimientos ambulantes de jugos, con el fin de aportar datos cuantitativos sobre la composición y rendimientos de algunos de los materiales que se pueden obtener de estos residuos, así como de los procesos comunes de se realizan para su obtención.

Parte experimental

Obtención de las semillas de los desechos:

Los desechos del fruto de naranjas, constituidos esencialmente por semillas y pulpa de naranja (epicarpio, mesocarpio y parte del endocarpio), fueron recolectados de comercios ambulantes dedicados a la venta de jugo de naranja ubicados en: (a) las cercanías de la plaza Bolívar de la ciudad de Mérida y (b) al frente del estacionamiento de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, sector La Hechicera, ambos en el estado Mérida. Se recolectaron para el estudio un total de 1176g (balanza analítica Oertling TP20 1600g). Posteriormente se realizó el proceso de separación de las semillas, colocando el material en contacto con agua en un vaso de precipitado de 2L, para separarlas manualmente del resto de residuos. Seguidamente, fueron colocadas en un filtro plástico casero (de cocina), donde se lavaron con agua abundante, luego de lo cual se dejaron secar al aire libre por toda la noche, obteniéndose una masa de 236g. Las semillas recolectadas del proceso anterior fueron secadas por 12 horas en una estufa (JP Selecta SA) a una temperatura de 60 °C, obteniéndose una masa final de 142g de semilla seca.

Extracción del aceite:

Se utilizó un equipo Soxhlet de 250mL y 100mL de n-hexano (Burdick & Jackman, 99,9%) como disolvente. El proceso de extracción se realizó durante 3 horas usando las semillas

secas y finamente molidas mediante un molino casero para granos (Corona). El aceite fue separado del n-hexano en un rotaevaporador BUCHI R-200 a 50°C. Seguidamente, el aceite fue filtrado al vacío y recolectado en fíolas de 50mL que se guardaron debidamente selladas e identificadas (triplicado).

Transesterificación:

Las reacciones se realizaron en un balón fondo redondo de 250mL, donde se colocaron 0,1251 gramos de NaOH (Riedel-de-Haen, 99%) disueltos en 2,5mL de metanol (Fisher Scientific, 99,9%) con la cantidad de aceite obtenido en cada extracción. La mezcla se calentó hasta reflujo con agitación constante, usando un baño de agua por 90 minutos. Los esteres obtenidos se lavaron con 3 volúmenes de 15mL de HCl (Riedel-de-Haen, 37%) al 5% para neutralizar el excedente de NaOH, seguido de la extracción con diclorometano (Riedel-de-Haen, 99,5%) y separación de la capa orgánica con un embudo de separación. Posteriormente se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio (IQE, 99%) y se elimina el solvente mediante el rotaevaporador, obteniéndose un líquido denso de color amarillo fuerte que fue destilado al vacío ($P = 5\text{mmHg}$; $T_{\text{dest}} = 160^\circ\text{C}$) para generar un destilado transparente y con densidad aparente menor que el aceite original, quedando en el balón de reacción un residuo marrón.

Hidrólisis de la mezcla de esteres:

Se realizó usando NaOH disuelto en agua como agente hidrolítico, en un sistema de reflujo; las cantidades de NaOH y agua dependen de la cantidad en gramos de esteres, provenientes de cada reacción de transesterificación. La mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 90 minutos usando un baño de aceite, con agitación magnética constante. La mezcla de sales resultantes se lavó tres veces con n-hexano para eliminar los esteres que quedaron sin reaccionar. Posteriormente, el producto de la reacción se neutralizó con 10mL de solución de HCl al 10% para regenerar la mezcla de ácidos correspondiente. Se recristaliza en n-hexano, proceso donde se logra separar por filtración en caliente una fracción insoluble.

Caracterización y cuantificación:

Espectroscopia IR-TF: se utilizó un equipo Perkin-Elmer RX1, modelo 1605.

Espectroscopia ¹H-RMN: se empleó un equipo Bruker Avance DRX de 400 MHz. Las muestras para la toma de los espectros se prepararon en CDCl₃.

Cromatografía de gases acoplada a masas (CG-EM): se utilizó un cromatógrafo HP6890 acoplado a un detector de masas HP 5973, equipado con un inyector automático HP-ALS y una columna capilar de sílice fundida HP-5MS de

Tabla 1: Cantidades manejadas durante el proceso de obtención del aceite de semillas de naranja procedentes de residuos en ventas ambulantes de jugos de la ciudad de Mérida, Venezuela.

Masa de residuo inicial (g)	Masa de semillas húmedas (g)	Masa de semillas secas (g)	% (p/p) aceite en semillas secas	% (p/p) aceite en semillas húmedas	% (p/p) aceite en material inicial
1176	236	148	42,7	24,8	5,1

Tabla 2: Cantidades de aceites, esteres y ácidos obtenidos durante los procesos de extracción con Soxhlet (n-hexano), transesterificación e hidrólisis, respectivamente, usando semillas de naranjas procedentes de desechos.

	m_{semillas}^* (g)	m_{aceite} (g)	Rend. aceite ^{**} (%)	m_{esteres} (g)	Rend. esteres ^{***} (%)	$m_{\text{mezcla ácidos}}$ (g)	Rend. ácidos ^{****} (%)
Exp. 1	45,812	19,156	41,81	8,889	46,20	7,425	87,65
Exp. 2	45,052	19,329	42,90	8,652	44,56	6,041	73,26
Exp. 3	45,472	19,922	43,81	8,399	41,97	6,423	80,24
Promedio	45,5 ± 0,4	19,5 ± 0,4	42 ± 1	8,7 ± 0,3	44 ± 2	6,6 ± 0,7	80 ± 7

* m_{semillas} = masa de semillas secas extraídas

** El rendimiento fue calculado considerando la masa del aceite obtenido en relación a la masa de la semilla seca.

*** Valores aproximados considerando que cada molécula de triglicérido tiene en promedio tres residuos carboxilato $-\text{O}-\text{CO}-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$.

**** Valores aproximados considerando que los esteres metílicos tienen en promedio residuos carboxilato $-\text{O}-\text{CO}-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$

fenil (5%)-metil (95%)-polisiloxano de 30m de largo, 0,25mm de diámetro interno y un espesor de película de 0,25 μm . La energía de ionización utilizada fue de 70eV. Se inyectó un 1,0 μL de una solución al 2% del aceite disuelto en éter dietílico. Se aplicó un reparto de 50:1. La temperatura del horno se programó de la siguiente manera: la temperatura inicial 60°C, temperatura final 260°C, calentamiento a razón de 4°C/ minuto. Tiempo total de análisis, 50 minutos. Como gas portador se usó Helio a razón de 0,8mL/minuto, a volumen constante. La temperatura del inyector fue de 200°C. Este análisis se utilizó para el cálculo de las áreas de los picos, sin aplicar factores de corrección. La identificación de los componentes del aceite se realizó mediante comparación computarizada de los espectros de masas de la muestra con los espectros de la sexta edición de la librería de Wiley.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se resumen las cantidades iniciales del material de partida y de semillas húmedas y secas que se manejaron durante el estudio. Como se puede apreciar en ella, el contenido de aceite en los residuos iniciales es alrededor de un 5,1% (p/p), una cantidad nada despreciable si se considera que éstos provienen de material de desecho y que el producto pudiera adquirir importancia económica si su proceso de obtención y mercadeo es manejado adecuadamente. En la figura 1 se presenta una fotografía para una porción del aceite obtenido, el cual tiene un olor y una apariencia muy agradable.

**Fig. 1:** Fotografía de una porción del aceite extraído de las semillas de naranja.

Por su parte, en la tabla 2 se muestran las cantidades de aceite, esteres y ácidos obtenidas a partir de las semillas secas durante los procesos de extracción con Soxhlet, transesterificación e hidrólisis, respectivamente. El rendimiento obtenido en la extracción del aceite (42%) es ligeramente superior al reportado (36%) en otra investigación similar [13] donde se empleó éter como solvente.

Por otro lado, se obtuvo un rendimiento porcentual aproximado para la reacción de transesterificación que permite la producción de los esteres metílicos a partir del

aceite, el cual resultó ser relativamente bajo ($44 \pm 2\%$), suponiéndose que una de las razones importantes para ello puede ser la pérdida parcial de los esteres obtenidos durante el proceso de separación de la glicerina debido a que la interfase entre las dos capas que se forman durante la reacción no es completamente limpia. En el cálculo de este rendimiento aproximado se ha supuesto que el aceite está compuesto por triglicéridos que tienen residuos carboxilatos con una estructura promedio igual a $-\text{O}-\text{CO}-\text{C}_{17}\text{H}_{35}$, la cual ha sido tomada como un promedio de los tres residuos carboxilatos mayoritarios encontrados en la mezcla de esteres, como se detalla más adelante. En cuanto al rendimiento porcentual de la reacción de hidrólisis de los esteres obtenidos se observó un rendimiento relativamente alto ($80 \pm 7\%$) y, al igual que en el caso anterior, los valores hallados son aproximados, suponiendo que cada molécula de ester metílico tiene en promedio un residuo carboxilato con la misma estructura anterior.

Para establecer la composición química del aceite obtenido mediante el proceso de extracción con Soxhlet se analizó por CG-EM la mezcla de esteres que se obtuvo luego de la reacción de transesterificación con metanol. El cromatograma obtenido (figura 2) refleja que la muestra está conformada por una mezcla de varios esteres, de los cuales existen cuatro en proporciones mayoritarias.

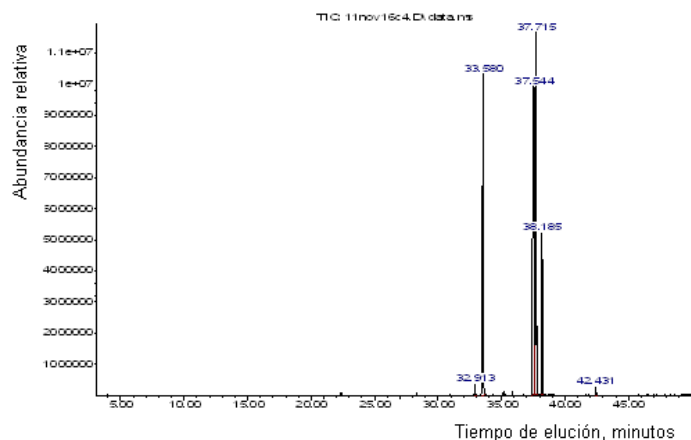


Fig. 2: Cromatograma de gases para la mezcla de metil esteres obtenida luego de la reacción de transesterificación del aceite extraído de las semillas de naranja.

Los componentes mayoritarios de la mezcla de esteres metílicos fueron identificados a través de sus respectivos espectros de masas (figura 3) como: linoleato, oleato, palmítrato y estearato, en las proporciones que se reportan en la tabla 3. Estos valores están dentro de los intervalos porcentuales obtenidos en estudios similares [15], donde también estos cuatro ácidos resultaron los componentes mayoritarios en la mezcla de triglicéridos que conforman el aceite.

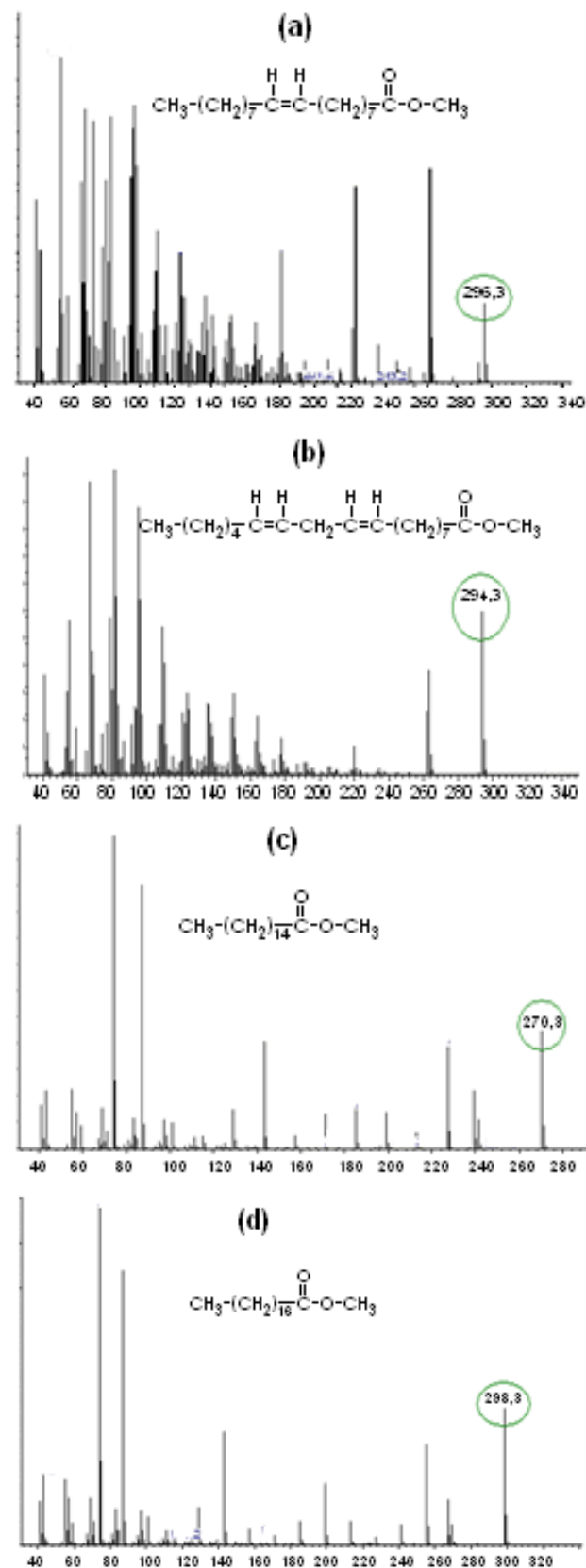


Fig. 3: Espectros de masas de los componentes principales de la mezcla de esteres metílicos obtenida luego de la reacción de transesterificación al aceite extraído de las semillas de naranja: (a) oleato, (b) linoleato, (c) palmítrato y (d) estearato.

Tabla 3: Resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Ester del ácido	Fórmula	Peso molecular (g/mol)	Peso del ión molecular experimental	Muestra	% total de ester
Palmítico	$C_{17}H_{34}O_2$	270,5	270,3	1	28,219
				2	28,177
				3	32,824
				Promedio	30 ± 3
Oleico	$C_{19}H_{36}O_2$	296,5	296,3	1	31,254
				2	31,632
				3	29,877
				Promedio	31 ± 1
Linoléico	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5	294,3	1	32,039
				2	32,020
				3	29,904
				Promedio	31 ± 1
Esteárico	$C_{19}H_{38}O_2$	298,5	298,3	1	7,416
				2	7,396
				3	6,599
				Promedio	7,1 ± 0,5

La presencia de cantidades importantes de residuos carboxilatos insaturados en la mezcla de triglicéridos había sido inferida del espectro de IR-TF que se realizó al aceite inicial (figura 4a). En este espectro se puede apreciar una señal pequeña a 1654cm^{-1} , correspondiente al estiramiento C=C, la cual se origina en la porción de ácidos insaturados que componen la mezcla de triglicéridos; esta señal se observa también en el espectro de IR-TF de la mezcla de metil ester que se obtuvo luego del proceso de trans-esterificación con metanol (figura 4b).

La mezcla de metil-esteres también fue caracterizada por espectroscopia de resonancia magnética nuclear. El espectro de ^1H -rmn obtenido se muestra en la figura 5(a) y en él se pueden destacar las señales de los protones olefinicos que aparecen entre 5,31-5,38ppm. La presencia de los residuos linolenato y linoleato en esta mezcla se confirma mediante las señales que aparecen entre 2,75-2,78ppm, las cuales pueden ser asignadas a protones metilénicos ubicados entre dos insaturaciones (2 protones en el caso del residuo linoleato y 4 protones en el caso del linolenato).

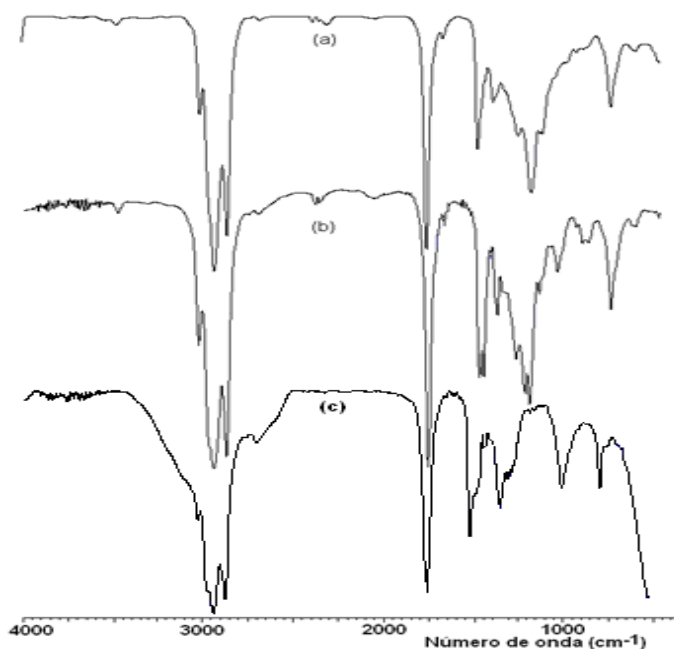


Fig. 4: Espectro de IR-TF para (a) el aceite inicial extraído de las semillas de naranjas y (b) la mezcla de metil-esteres luego de la reacción de trans-esterificación.

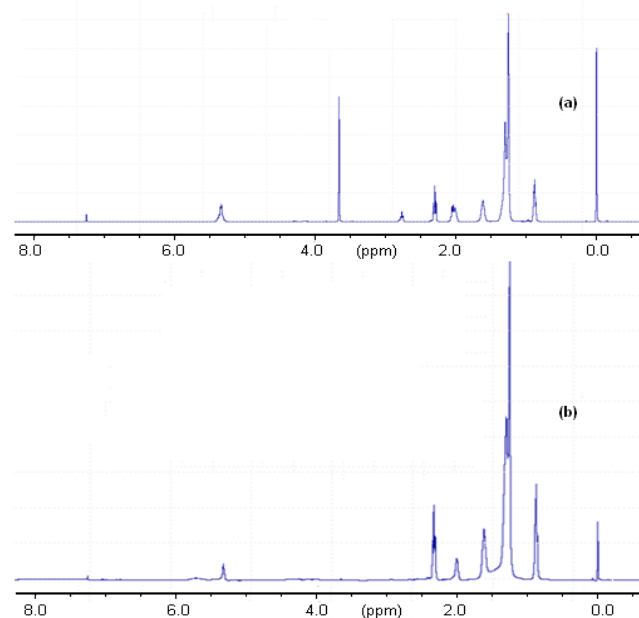


Fig. 5: Espectros de ^1H -rmn para la mezcla de (a) metil-esteres que se obtiene luego de la reacción de trans-esterificación del aceite de semillas de naranjas con metanol; (b) mezcla de los ácidos obtenidos durante la hidrólisis de los metil-esteres (luego de su re-cristalización). Solvente: CDCl_3 .

En la tabla 2 se muestra que el rendimiento de la reacción de hidrólisis fue relativamente alto, en promedio un 80%, aunque es importante destacar que la mezcla de ácidos obtenida contenía una pequeña proporción de esterres sin reaccionar, la cual fue detectada por espectroscopia IR-FT. La posterior re-precipitación con HCl de los ácidos, a partir de sus soluciones acuosas en NaOH, permite liberar la mezcla de ácidos de estos metil esterres como se aprecia en la figura 4c, donde se muestra el espectro de la mezcla de ácidos obtenida después del proceso de re-cristalización. Se observa claramente la desaparición en el espectro de $^1\text{H-rmn}$ de la señal asignada al grupo metilo en $-\text{COO}-\text{CH}_3$, a aproximadamente $\delta = 3,66$, confirmándose que la muestra está libre de esterres. Igualmente, la re-cristalización de la mezcla de ácidos en hexano permite separar una fracción de especies insolubles en este medio, permitiendo obtener de esta manera una mezcla de ácidos con un menor contenido de especies poli-insaturadas, como se infiere de la desaparición de las señales alrededor de $\delta = 2,78$ en el espectro de $^1\text{H-rmn}$.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que las semillas de naranja obtenidas de residuos colectados en ventas ambulantes de jugos pueden ser separadas y procesadas mediante técnicas relativamente sencillas para obtener subproductos de mayor valor agregado, como el aceite, los esterres y los ácidos carboxílicos, con rendimientos que pudiesen resultar económicamente rentables. En ese sentido, la obtención del aceite de semilla de naranja pareciera tener buenas perspectivas debido a lo sencillo de su proceso de extracción y a su potencial aplicación en cosmética.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó como proyecto final del curso de Análisis Orgánico B-2011. Los autores agradecen el equipamiento parcial realizado por el Vicerrectorado Académico-ULA para este laboratorio de docencia y al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear del Departamento de Química por los estudios de $^1\text{H-rmn}$.

Referencias

1. A Castillo, S Quarin, M Iglesias. Caracterización química y física de compost de lombrices elaborados a partir de residuos orgánicos puros y combinados. **Agricultura Técnica**, **60(1)**, (2000).
Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072000000100008&lng=es&nrm=iso. Consultado: 21/03/2012.
2. A Vidales, V Chávez, E García, M Gómez. Alimentos balanceados para animales a partir de residuos orgánicos. **Conciencia Tecnológica**, 026 (2004).
Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=94402605>. Consultado: 25/03/2012.
3. T Garcia, J Roca. Industrialización de los crustáceos para la obtención de Quitosano en unguento con efecto cicatrizante. **Industrial Data**, **11(2)**, 24-32 (2008).
4. A Armada, E Barquinero, E Capote. Empleo del bagazo como material adsorbente en derrames de petróleo. **Revista del ICIDCA (Cuba)**, **XLII(1-3)**, 96-100 (2008).
5. R D'Addosio, G Páez, M Marín, Z Mármol, J Ferrer. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener). **Rev. Fac. Agron. (LUZ)**, **22**, 240-249 (2005).
6. S Hernández, N Güemes. Efecto de la Adición de Harina de Cáscara de Naranja sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Textuales y Sensoriales de Salchichas Cocidas. **Nacameh**, **4(1)**, 23-36 (2010).
7. C Sáenz, A Estévez, S Sanhueza. Utilización de residuos de la industria de jugos de naranja como fuente de fibra dietética en la elaboración de alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, **57(2)**, 186-191 (2007).
8. M Moreno, J Hernández, R Rovero, A Tablante, L Rangel. Alimentación de Tilapia con raciones parciales de cáscaras de naranja. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, **3(1)**, 29-33 (2000).
9. S Benitez, C Poveda. Evaluación nutricional de ensilajes con diferentes niveles de inclusión de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y digestibilidad in vivo como alternativa energética para alimentación de cerdos. **Revista Colombiana de Ciencia Animal**, **4(1)**, 20-28 (2011).
10. V Bampidis, P Robinson. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, **128**, 175-217 (2006).
11. J Devia. Proceso para producir pectinas cítricas. **Revista Universidad Eafit, Enero-Marzo (19)**, 21-30 (2003).
12. J Rojas, A Perea, E Stashenko. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. **Vitae**, **16(1)**, 110-115 (2009).
13. M de Mingo, O Fernández, A Toledano. Estudio químico-analítico del aceite de semillas de naranja. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, **3(1)**, 1-21 (1942).
14. B Nwobi, O Ofoegbu, O Adesina. Extraction and Qualitative Assessment of African Sweet Orange Seed Oil. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, **6(2)**, 1-11 (2006).
15. A Adeyeye. Characterisation of Nigerian citrus seed oils. **Food Chemistry**, **47(1)**, 77-78 (1993).