



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA**  
**QUÍMICA – ALIMENTOS**

**PROCESO NOVEDOSO PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES  
DE CÍTRICOS POR EXTRUSIÓN EN EQUIPO DE DOBLE TORNILLO**

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**DOCTOR EN INGENIERÍA**

**PRESENTA:**  
**LÁZARO GABRIEL TRUJILLO JUÁREZ**

**TUTOR PRINCIPAL**  
**EDUARDO BÁRZANA GARCÍA, FQ-UNAM**  
**COTUTOR**  
**ÓSCAR HERNÁNDEZ MELÉNDEZ, FQ-UNAM**  
**COMITÉ TUTOR**  
**JESÚS GRACIA FADRIQUE, FQ-UNAM**  
**MIQUEL GIMENO SECO, FQ-UNAM**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. SEPTIEMBRE 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

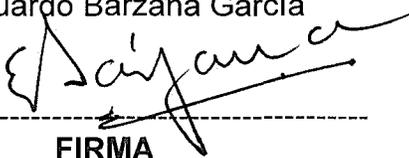
**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dr. Alberto Tecante Coronel  
Secretario: Dr. Miquel Gimeno Seco  
1<sup>er</sup> Vocal: Dr. Óscar Hernández Meléndez  
2<sup>do</sup> Vocal: Dr. Jesús Gracia Fadrique  
3<sup>er</sup> Vocal: Dr. Eduardo Bárzana García

Lugar o lugares donde se realizó la tesis: LABORATORIO DE INGENIERÍA QUÍMICA. CONJUNTO A. FACULTAD DE QUÍMICA.

**TUTOR DE TESIS:**

Dr. Eduardo Bárzana García



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'E. Bárzana', is written over a horizontal dashed line. The signature is fluid and cursive.

**FIRMA**

## INDICE GENERAL

	Página
<b>RESUMEN</b>	1
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	2
1.1. Género Citrus	2
1.2 Cítricos de importancia comercial	3
1.3 Producción de cítricos en México	5
1.4 Industrialización de cítricos	6
1.5 Toronja ( <i>Citrus paradisi</i> , Macfadyen)	8
1.5.1 Aspectos edafoclimáticos	9
1.5.2 Aspectos económicos	10
1.5.3 Aspectos agroindustriales	12
1.6 Aceites esenciales	14
1.6.1 Nomenclatura	15
1.6.2 Propiedades organolépticas y características fisicoquímicas	16
1.6.3 Composición química	16
1.6.3.1 Compuestos volátiles	16
1.6.3.2 Compuestos no volátiles	18
1.6.4 Aplicaciones de los aceites esenciales de cítricos (aceite esencial de toronja)	19
1.6.5 Tecnologías de extracción	21
1.6.5.1 Tecnologías tradicionales	21
1.6.5.1.1 Prensado en frío	21
1.6.5.1.2 Extracción por arrastre de vapor	22
1.6.5.1.3 Extracción por hidrodestilación	22
1.6.5.1.4 Extracción por lixiviación	23
1.6.5.2 Tecnologías emergentes	23
1.6.5.2.1 Fluidos supercríticos	23
1.6.5.2.2 Expansión al vacío	24
1.6.5.2.3 Extracción asistida por microondas	24
1.6.5.2.4 Extracción asistida por ultrasonido	25
1.7 Tecnologías de extrusión en equipo de doble tornillo	25
1.8 Hipótesis	27
1.9 Objetivo general	27
1.10 Objetivos específicos	27
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	29
2.1 Extrusor de doble tornillo	29
2.1.1 Arreglo del perfil de tornillos	31
2.2 Materia prima	32
2.2.1 Determinación de humedad	33
2.3 Rendimiento másico de extracción	33
2.4 Caracterización fisicoquímica del tapón	33
2.4.1 Índice de dureza	34

2.4.2 Rendimiento de pectina	34
2.4.3 Azúcares reductores	34
2.4.4 Viscosidad	35
2.5 Productividad energética de la extracción	35
2.6 Caracterización fisicoquímica y química del aceite esencial obtenido	35
2.6.1 Apariencia, color y olor.	36
2.6.2 Densidad relativa a 20 °C	36
2.6.3 Índice de refracción a 20 °C	36
2.6.4 Rotación óptica a 20 °C	36
2.6.5 Contenido total de aldehídos (como porcentaje de decanal)	37
2.6.6 Residuo a la evaporación	37
2.6.7 Perfil cromatográfico. Compuestos volátiles	37
2.6.8 Perfil cromatográfico: Compuestos no volátiles	38
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>40</b>
3.1 Diseño y modificación del extrusor de doble tornillo.	40
3.1.1 Diseño de la conformación del tornillo	41
3.2 Diseño Experimental	42
3.3 Materia Prima	43
3.4 Experimentos preliminares con humedad nativa y humedad reducida	43
3.5 Consideraciones fisicoquímicas	45
3.6 Consideraciones edafoclimáticas y geográficas	49
3.7. Rendimiento másico	51
3.8 Caracterización fisicoquímica del material que contiene el tapón	54
3.8.1 Índice de dureza	54
3.8.2 Contenido de pectina	55
3.8.3 Azúcares reductores	56
3.8.4 Viscosidad	56
3.9 Requerimiento energético (Productividad económica)	58
3.10 Propiedades sensoriales	60
3.10.1 Apariencia	60
3.10.2 Color	60
3.10.3 Olor	61
3.11 Caracterización fisicoquímica	61
3.11.1 Densidad relativa a 20 °C	63
3.11.2 Índice de refracción a 20 °C	63
3.11.3 Rotación óptica a 20 °C	64
3.11.4 Contenido total de aldehídos (expresado como porcentaje de decanal)	64
3.11.5 Residuo a la evaporación	65
3.12 Perfil cromatográfico	65
3.12.1 Compuestos volátiles (Cromatografía de gases)	66
3.12.2 Compuestos no volátiles (Cromatografía de líquidos de alta resolución)	67

<b>4. CONCLUSIONES</b>	71
<b>5. RECOMENDACIONES</b>	73
<b>6. REFERENCIAS</b>	74
<b>Anexo 1. ISO 3053:2004 Oil of Grapefruit (Citrus x paradisi Macfad.), obtained by expression</b>	84

## INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Producción mundial total de cítricos, por variedad, en millones de toneladas (ciclo agrícola 2016), (FAO, 2017).	4
Figura 1.2 Producción total de frutos cítricos, por país en millones de toneladas (ciclo agrícola 2016), (FAO, 2017).	4
Figura 1.3 Principales países productores de toronja para el ciclo agrícola 2016 en miles de toneladas (FAO, 2017).	5
Figura 1.4. Producción de cítricos en México, en miles de toneladas para el ciclo agrícola 2016 (FAO, 2017).	6
Figura 1.5 Toronja ( <i>Citrus paradisi</i> , Macfadyen) (Hollender, 2014).	9
Figura 1.6 Canales de comercialización de toronja (CONCITVER, 2018).	13
Figura 1.7 Principales terpenoides del aceite esencial de toronja (Dugo y Di Giacomo, 2002).	17
Figura 1.8 Estructura química de la nootkatona (McLeod, 1966)	17
Figura 1.9 Compuestos heterocíclicos oxigenados polares del aceite esencial de toronja (Feger, 2006).	18
Figura 1.10 Compuestos heterocíclicos oxigenados no polares del aceite esencial de toronja (Feger, 2006).	19
Figura 1.11 Sección transversal de una toronja, que muestra: (a) flavedo con glándulas con aceite; (b) semillas; (c) vesículas de jugo; (d) centro; (e) albedo; (f) gajo; (g) membrana del gajo (Dugo y Di Giacomo, 2002).	
Figura 2.1 Esquema general de la operación unitaria de extrusión.	29
Figura 2.2 Esquema del extrusor.	30
Figura 2.3 Extrusor.	30
Figura 2.4 Funciones de los elementos del tornillo (Clextral Inc., 2018).	31
Figura 2.5 Tornillo de transporte (Clextral Co., 2018).	32
Figura 2.6 Tornillo contrafilete (Clextral Co., 2018).	32
Figura 2.7 Estructura general de la pectina. El monómero es el ácido galacturónico.	34
Figura 3.1 Perfil del tornillo usado para la extracción de aceite esencial de toronja.	41
Figura 3.2 Curva de secado para cáscara de toronja. La línea punteada muestra la humedad crítica al cambiar la pendiente de la recta.	44
Figura 3.3 Aceite obtenido de cáscara de toronja con diferente humedad: 1. Humedad nativa; 2. Humedad reducida.	44
Figura 3.4 Curvas de equilibrio del agua y del limoneno.	46
Figura 3.5 Gráfica de la ecuación de Clausius-Clapeyron para las condiciones de extracción (línea negra con puntos)	47
Figura 3.6 Productividad técnica de aceite esencial de toronja en el ciclo agrícola septiembre-febrero 2016-2017.	50
Figura 3.7 Proceso de pretratamiento de la cáscara de toronja para la extracción.	51
Figura 3.8 Gráfica de intervalos de confianza para los rendimientos de aceite esencial obtenidos a 60 rpm.	53

Figura 3.9 Gráfica de intervalos de confianza para los rendimientos de aceite esencial obtenidos a 80 rpm.	53
Figura 3.10 Tapón formado dentro del extrusor.	54
Figura 3.11 Gráfica de intervalos de confianza para el índice de dureza del material presente en el tapón dinámico.	55
Figura 3.12 Gráfica de contenido de pectina y azúcares reductores (ácido galacturónico) para el material del tapón.	56
Figura 3.13 Viscosidad relativa para el material obtenido del tapón.	57
Figura 3.14 Gráfica de intervalo para la productividad económica para la extracción de aceite esencial de toronja.	59
Figura 3.15 Productividad técnica versus productividad económica para la extracción de aceite esencial de toronja.	59
Figura 3.16 Apariencia y color de los aceites esenciales obtenidos por extrusión y el aceite grado analítico de Sigma-Aldrich.	62
Figura 3.17 Estándares correspondientes al aceite esencial de toronja, limoneno (pico azul), $\alpha$ -pineno (pico rojo) y mirceno (pico verde).	66
Figura 3.18 Cromatograma de gases típico del aceite esencial de toronja con los principales compuestos.	67
Figura 3.19 Espectro de absorbancia de 700 nm a 200 nm para aceite esencial de toronja obtenido a 140 °C y 80 rpm.	68
Figura 3.20 Estándares utilizados para identificar los compuestos no volátiles del aceite esencial de toronja, el pico verde corresponde a la meranzina, el pico rojo al aurapteno y el pico azul al bergamoteno.	69
Figura 3.21 Cromatograma de HPLC a 280 nm para el aceite obtenido a 150 °C y 180 rpm.	69

## INDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1.1 Producción y procesamiento de cítricos para los principales países productores de cítricos para el ciclo agrícola 2016 (FAO, 2017).	7
Tabla 1.2 Producción mundial, cantidad procesada y porcentaje de fruta procesada (FAO, 2017).	8
Tabla 1.3 Rendimiento y valor de la producción nacional de toronja para los ciclos agrícolas 2010-2016 (SIACON-SAGARPA, 2018).	11
Tabla 1.4 Producción y rendimiento obtenido para los principales estados durante el ciclo agrícola 2016 (SIACON-SAGARPA, 2018).	12
Tabla 1.5 Principales productos cítricos comercializados por CITROFRUT.	13
Tabla 1.6 Productos secundarios que produce CITROFRUT.	13
Tabla 3.1 Componentes de los módulos que conforman el tornillo usado para la extracción.	41
Tabla 3.2 Parámetros de la Ecuación de Antoine de limoneno y agua.	45
Tabla 3.3 Presión del proceso de extracción.	49
Tabla 3.4 Productividad técnica (g AE/kg de cáscara BS.min)	51
Tabla 3.5 Productividad económica (W.h/g de AE)	58
Tabla 3.6 Apariencia.	60
Tabla 3.7 Color.	60
Tabla 3.8 Olor.	61
Tabla 3.9 Densidad relativa calculada a partir de la norma ISO 279.	63
Tabla 3.10 Índice de refracción calculado a partir de la norma ISO 280.	63
Tabla 3.11 Rotación óptica calculada a partir de la norma ISO 3053.	64
Tabla 3.12 Contenido total de aldehídos calculado a partir de la norma ISO 1979.	64
Tabla 3.13 Residuo a la evaporación calculado a partir de la norma ISO 4715.	65
Tabla 3.14 Perfil cromatográfico del aceite esencial de toronja a partir de la norma ISO 7906.	67

## RESUMEN

México es líder en producción de cítricos. En 2016 se ubicó como el quinto productor a nivel mundial (4% del total) detrás de China (52%), Estados Unidos (9%), Vietnam (6%) y Tailandia (5.5%) (FAO, 2017). En México, se desarrolla en 28 estados con climas tropicales, siendo Veracruz el principal productor donde se cultiva naranja, limón, mandarina, toronja, tangerina y tangelo. En segundo lugar, Tamaulipas con producción de naranja, mandarina y toronja, seguido de San Luis Potosí con naranja y mandarina, Nuevo León con naranja, mandarina y toronja, y Michoacán con limón y toronja (SIACON-SAGARPA, 2018). Para México la citricultura representa una actividad de gran importancia dentro de la fruticultura nacional ya que una de cada veinte toneladas de cítricos que se consumen en el mundo proviene de nuestro país. La superficie sembrada en 2016 fue de 560,143 hectáreas, que produjeron un promedio anual de 6,634,000 toneladas de fruta. Los cultivos de naranja, limón, toronja y mandarina se procesan industrialmente para la producción de jugos, generándose residuos sólidos como cáscaras, membranas, segmentos y semillas. La fuente más rica de aceites esenciales de cítricos se encuentra ubicada en las cáscaras, razón por la cual fueron elegidas como sustrato modelo para evaluar la factibilidad técnica y energética de un proceso novedoso de extracción de aceites esenciales mediante la extrusión de doble tornillo. La toronja fue seleccionada como sustrato modelo a causa de su disponibilidad durante la temporalidad del estudio. Se seleccionaron las condiciones de operación del extrusor en función de las propiedades fisicoquímicas del agua y del limoneno, principal compuesto del aceite esencial. La productividad técnica y económica de este proceso es superior a los procesos tradicionales reportados para toronja y para otros cítricos. La calidad del aceite obtenido cumplió con la normatividad internacional ISO 3053:2004 "*Oil of grapefruit (Citrus x paradisi Macfad.), obtained by expression*". Se obtuvieron productividades máximas de 2.21 g de aceite esencial /kg de cáscara base seca x minuto de proceso y requerimientos energéticos mínimos de 0.7163 W·h/g aceite esencial obtenido, los cuales representan valores atractivos con respecto a los procesos tradicionales. Se determinó el efecto de las condiciones edafoclimáticas durante el ciclo agrícola 2016-2017, respecto al rendimiento de aceite esencial, encontrándose que el mes de enero es el periodo de mayor rendimiento de aceite, este periodo es el que registró menor temperatura de todo el ciclo. El aceite obtenido se encuentra en los rangos de permisibilidad estipulados por la norma internacional, por lo que es considerado un aceite de alta calidad y valor comercial. Existen otros procesos en desarrollo, tales como, microondas, fluidos supercríticos, entre otros, sin embargo, por su complejidad, no se han implementado a nivel industrial.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 Genero Citrus

Según el sistema Engler, el reino vegetal tiene trece divisiones; el decimotercero (Embryophyta Siphonogama) corresponde a la Spermaphyta. Los niveles taxonómicos inferiores son los siguientes:

Subdivisión: Angiospermae  
Clase: Monocotyledoneae  
Orden: Geraniales  
Familia: Rutaceae  
Subfamilia: Aurantioideae

Aunque existen otras subfamilias dentro de las Rutaceae, todos los cítricos pertenecen a la subfamilia Aurantioideae, que incluye dos tribus: los Clauseneae, que son los árboles frutales citroides lejanos y muy lejanos, con cinco géneros, y los Citreae, que son los árboles frutales cítricos y citroides, con tres subtribus las cuales son los Triphasiinae o frutales citroides menores (ocho géneros), los Balsamocitrinae o árboles frutales citroides de cáscara dura (siete géneros) y los Citrinae o árboles frutales cítricos (trece géneros) donde se encuentra el género de cítricos verdaderos, entre los cuales están incluidos, *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella*.

El género principal dentro de la subfamilia Aurantioideae es el *Citrus*, en el que prácticamente todos los árboles de cítricos cultivados en todo el mundo están incluidos. La frecuencia de mutaciones espontáneas, así como la alta incidencia de híbridos obtenidos artificialmente ha originado la existencia de un gran número de variedades con interés más o menos comercial, recibiendo nombres locales y complicando la identificación taxonómica de cada uno de ellos (Dugo y Di Giacomo, 2002).

El género *Citrus*, cuyo término común es cítrico, designa las especies de grandes arbustos o arbolillos perennes (entre 5 y 15 m), cuyos frutos o frutas de la familia Rutaceae poseen un alto contenido en vitamina C (ácido ascórbico) y ácido cítrico, el cual les proporciona ese sabor ácido tan característico. Este género, oriundo de Asia tropical y subtropical, está conformado por tres especies y numerosos híbridos cultivados, incluyendo las frutas más ampliamente comercializadas, como el limón, la naranja, la lima, la toronja o pomelo y la mandarina, con diversas variedades que dependen de la región en la que se cultive cada una de ellas (Inforural, 2012).

El papel de los cítricos como fuente de nutrientes y valor medicinal ha sido reconocido desde la antigüedad, además de ser conocidos por su refrescante fragancia y la capacidad de la vitamina C de calmar la sed.

Además del ácido ascórbico, estas frutas contienen varios compuestos fitoquímicos, que desempeñan el papel de productos nutracéuticos, como los carotenoides (licopeno y  $\beta$ -caroteno), limonoides, flavononas (naringinas y rutinósidos), vitaminas

del complejo B y nutrientes relacionados (tiamina, riboflavina, ácido nicotínico/niacina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido fólico, biotina, colina e inositol).

El fruto de los cítricos es un hesperidio que surge a través del crecimiento y el desarrollo del ovario, consiste en un número variable de carpelos (generalmente nueve a diez en los cultivos comerciales más importantes, como las naranjas y mandarinas) cubiertas por una cáscara coriácea y el endocarpio como parte comestible. Los carpelos contienen semillas y pulpa (El-Otmani *et al.*, 2011).

## 1.2 Cítricos de importancia comercial

Varias especies y sus híbridos, considerados bajo el término más general “cítricos” son de gran interés comercial: ejemplos incluyen limones (*Citrus lemon* (L.) Burn), limas (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing), naranjas dulces (*Citrus sinensis* (L.) Osb.), mandarinas (*Citrus reticulata* Blanco), satsumas (*Citrus unshiu* (Mak.) Marc), clementinas (*Citrus clementina* Hort.), toronjas (*Citrus paradisi* Macf.) y pomelos (*Citrus maxima* (L.) Osb) (UNECE, 2010).

Los cítricos son el primer cultivo de frutas en el comercio internacional en términos de valor. Su producción mundial en la temporada 2016 fue superior a 124 millones de toneladas, más que cualquier otra fruta (FAO, 2017).

Los cítricos se cultivan en todo el mundo. Según la FAO (2017), en 2016, hubo 140 países productores de cítricos. Alrededor del 70% del total de cítricos comercializables en el mundo se cultivaron en el hemisferio norte, en particular en Brasil, los países de todo el Mediterráneo y los Estados Unidos. La mayor producción en Europa se encuentra en España, que representa más del 55% de la producción de cítricos en Europa. Los cítricos se cultivan casi en todos los países ubicados en una latitud de 30-35° Norte y al Sur del Ecuador. Para algunas variedades, menos susceptibles al daño por heladas, la zona de cultivo alcanza 40° en ambos hemisferios.

Las variedades principales son: naranjas (61%), seguidas de mandarinas (22%), limones y limas (11%) y pomelo (6%) (figura 1.1). Los países productores de cítricos más importantes son China (26%), Brasil (13%) e India (8%) (Figura 1.2). Para las naranjas, Brasil lidera con 29%, seguido por Estados Unidos (11%), India y China (8% cada uno). El principal productor de tangerinas es China (55%), seguido por España (9%), Brasil y Japón (4% cada uno). India es el mayor productor de limones (21%), seguido por México (14%), Argentina 12%, España y Brasil (7% cada uno). China representa el 44% de la producción mundial de toronja, seguida por Estados Unidos (17%), México y Sudáfrica (6% cada uno) (Figura 1.3).

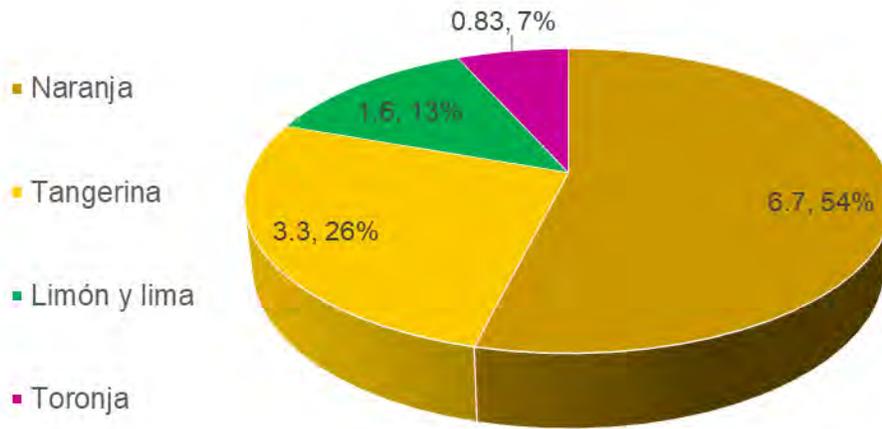


Figura 1.1 Producción mundial total de cítricos, por variedad, en millones de toneladas (ciclo agrícola 2016), (FAO, 2017).

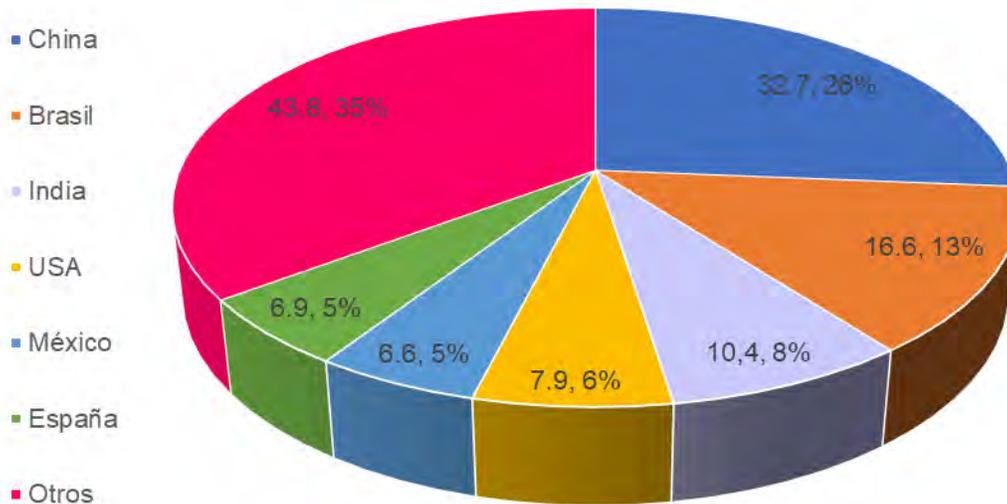


Figura 1.2 Producción total de frutos cítricos, por país en millones de toneladas (ciclo agrícola 2016), (FAO, 2017).

Existen dos mercados claramente diferenciados: el mercado de cítricos frescos, con predominio de naranjas y mandarinas, y el mercado de productos cítricos procesados, principalmente para jugo de naranja y toronja. La producción anual actual de cítricos en todo el mundo se estima en más de 105 millones de toneladas, y más de la mitad son naranjas. Alrededor de un tercio de la producción de cítricos se destina al procesamiento, y más del 80% de ésta se destina a la producción de jugo de naranja.

### 1.3 Producción de cítricos en México

México es líder en producción de cítricos, en el 2016 se ubicó como el quinto productor a nivel mundial (4% del total) detrás de China (52%), Estados Unidos (9%), Vietnam (6%) y Tailandia (5.5%) (FAO, 2017). La citricultura en México es una actividad de gran importancia económica y social: Se realiza en poco más de medio millón de hectáreas en regiones con clima tropical y sub-tropical en 23 entidades federativas. El cultivo de cítricos representa una fuente importante de ingresos en las zonas rurales donde se lleva a cabo. Se estima que cerca de 69 mil familias dependen de esta actividad, con un valor superior a siete mil 100 millones de pesos. La producción de cítricos en México se desarrolla en 28 estados con climas tropicales. El principal estado productor de cítricos es Veracruz, donde se cultiva principalmente naranja, limón, mandarina, toronja, tangerina y tangelo. En segundo lugar, está Tamaulipas con producción de naranja, mandarina y toronja, seguido por San Luis Potosí con naranja y mandarina, Nuevo León con naranja, mandarina y toronja, y finalmente Michoacán con limón y toronja. (Figura 1.3) (SIACON-SAGARPA, 2018).



Figura 1.3. Principales Estados productores de cítricos (SIACON-SAGARPA, 2018).

Para México la citricultura representa una actividad de gran importancia dentro de la fruticultura nacional: una de cada veinte toneladas de cítricos que se consumen en el mundo proviene de nuestro país. La superficie sembrada en 2016 fue de 560,144 hectáreas, que produjeron un promedio anual de 6,634,000 toneladas de

fruta. Lo que sitúa a México en el quinto lugar mundial en producción de cítricos (Inforural, 2012). De esa superficie, aproximadamente 80% se destina a los denominados cítricos dulces, cuya producción es del orden de 6.6 millones de toneladas por cosecha, principalmente de naranja (53% del total), limón y lima (34%), toronja (5%), mandarina y tangerina (8%) (Figura 1.4).

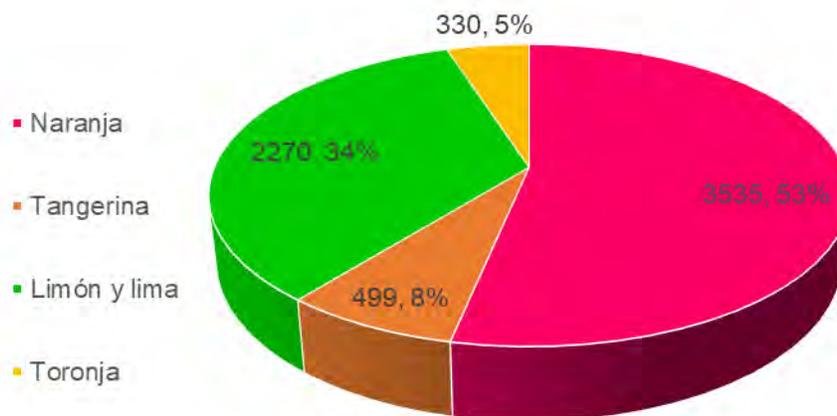


Figura 1.4. Producción de cítricos en México, en miles de toneladas para el ciclo agrícola 2016 (FAO, 2017).

#### 1.4 Industrialización de cítricos

Según Batchelor y Sinclair (1961), el comercio de las naranjas se puede clasificar en tres rubros: naranjas dulces, mandarinas o tangerinas y naranjas agrias. Las naranjas dulces se pueden dividir en tres grupos: naranjas con frutos normales (Valencia, Shamouti, etc.), naranjas de ombligo y naranjas de jugo, algunas de estas variedades de naranja no presentan semillas. Las variedades predominantes de limón son Eureka y Lisboa. Otras variedades importantes incluyen Villafranca, Femminello (Italia), Genova (Argentina), Meyer (híbrido, Estados Unidos), Verna (España) y Yen Ben (Australia, Nueva Zelanda). La variedad más importante de pomelos en el mundo es la Marsh Seedless, seguida por Duncan y las variedades pigmentadas como la rosa Thompson (Sinclair, 1972) y la roja Star Ruby. Además de estas variedades, continuamente se están desarrollando un gran número de híbridos mediante técnicas de cultivo de tejidos. La producción de una clase comercialmente importante de híbridos, desarrollada principalmente a partir de variedades de mandarinas y llamados "easypeelers", ha crecido considerablemente en los últimos años a expensas de las naranjas dulces (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 Producción y procesamiento de cítricos para los principales países productores de cítricos para el ciclo agrícola 2016 (FAO, 2017).

País	Producción total (miles de Ton)	Cantidad procesada (miles de Ton)	Porcentaje procesado (% del total)
Estados Unidos	7,829	3,760	48.0 %
Brasil	16,555	11,791	71.2 %
Argentina	2,800	1,670	59.6 %
México	6,634	1,703	25.7 %
España	6,882	952	13.8 %
China	50,839	2,461	4.8 %
Otros	50,839	2,461	4.8 %

En el pasado, los cítricos se comercializaban y consumían exclusivamente como fruta fresca, incluso en países que no producían cítricos. Esto fue posible debido a la extraordinaria estabilidad postcosecha de los cítricos que facilitan el comercio internacional y al hecho de que, en la mayoría de las variedades de cítricos, la fruta puede dejarse colgando en el árbol durante un largo tiempo después de la maduración sin un apreciable deterioro. Sin embargo, a medida que la superficie cultivada y el tamaño de los cultivos aumentaron constantemente, la industrialización de los cítricos se convirtió en una necesidad. Las industrias a pequeña escala incluyen la producción de compotas, jaleas y mermeladas. Los centros más grandes se planearon también para la extracción de aceites esenciales, pero la industrialización a gran escala comenzó con el establecimiento de las fábricas de jugo en California y Florida a principios del Siglo XX. El primer producto fue jugo enlatado mezclado con agua. En los siguientes años se hicieron avances tecnológicos importantes, como extractores continuos automatizados para la producción de jugo y se adoptó el intercambiador de calor de placas para su pasteurización continua. El desarrollo de evaporadores mejorados y diseñados especialmente para jugos de cítricos, así como la rápida expansión de la refrigeración industrial condujeron a la producción de jugos congelados concentrados que se convirtieron en el producto cítrico más popular durante muchos años.

El desarrollo del procesamiento y almacenamiento asépticos en el procesamiento de cítricos tuvieron un impacto muy fuerte en la industria alimentaria. El consumo cada vez mayor de productos cítricos procesados y particularmente de jugo de naranja concentrado congelado impulsó el desarrollo de grandes plantas de procesamiento de cítricos. Al mismo tiempo, los refrescos a base de cítricos como las limonadas y las naranjadas se convirtieron en el tipo principal de bebidas con sabor a frutas embotelladas.

Durante muchos años, la fabricación de gajos de cítricos enlatados adquirió una importancia considerable en China (naranjas Satsuma) e Israel (pomelo). En la

actualidad, aproximadamente el 25% de la producción mundial total de cítricos se procesa industrialmente (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Producción mundial, cantidad procesada y porcentaje de fruta procesada (FAO, 2017).

Cítrico	Producción total (miles de Ton)	Cantidad procesada (miles de Ton)	% Total procesado
Naranja	66,974	18,461	27.6 %
Toronja	8,322	787	9.5 %
Limón y lima	15,982	2,469	15.4 %
Tangerina	32,968	1,821	5.5 %
Total	124,246	23,539	18.9 %

### 1.5 Toronja (*Citrus paradisi*, Macfadyen)

El origen del pomelo (pomelo, toronja) es incierto, pero hay algunas evidencias de que las semillas fueron introducidas en Barbados por los primeros colonos e introducidas en Florida (EE. UU.) a principios del siglo XIX desde Cuba, Jamaica o Bahamas (Agusti *et al.*, 2014). La toronja debe su nombre a los frutos que nacen en racimos como las uvas. Entre los cítricos cultivados en los trópicos son las toronjas quienes tienen la mejor calidad y las mejores posibilidades comerciales como frutas frescas. Esto puede atribuirse al origen de esta fruta en los trópicos (Figura 1.5). Es uno de los cítricos de mayor tamaño (aunque más pequeño que los pomelos) con diámetros de 10-15 cm. Se considera que por su origen en las Indias occidentales la toronja tiene características similares a los pomelos (*C. maxima*), de ahí que en muchas ocasiones se le nombre indistintamente. Es una fruta típicamente tropical con temperaturas altas de producción agronómica. Las frutas cultivadas en áreas tropicales desarrollan un alto contenido de jugo, cáscara más delgada y baja acidez.

La gente en América del Norte, Europa y Japón prefieren la toronja fresca. Ésta puede sostenerse en el árbol durante mucho tiempo en el hemisferio norte, desde septiembre hasta el siguiente julio. Sin embargo, no es deseable mantenerla demasiado tiempo en el árbol porque puede ocurrir la granulación y las semillas pueden germinar dentro de la fruta, disminuyendo la acidez. Hay cítricos de pulpa roja y blanca. La pulpa roja se debe a los pigmentos de licopeno y carotenoides (Ladanyia y Landaniya, 2010).



Figura 1.5 Toronja (*Citrus paradisi*, Macfadyen) (Hollender, 2014)

### 1.5.1 Aspectos edafoclimáticos

La distribución agrícola de la toronja es más limitada con respecto a la de las naranjas dulces y las mandarinas. Los árboles de toronja son muy vigorosos y tienen un crecimiento de propagación. Las hojas son muy grandes, ovadas, con márgenes dentados, con un pecíolo grande y alado. La fruta es la variedad de cítricos comercial más grande. La fruta más dulce, jugosa y amarga se cultiva en regiones semitropicales de lluvia estival. En las áreas más frías y secas, la fruta tiene una corteza más gruesa, es menos dulce, mayor amargor y acidez en el jugo. Su calidad mejora cuando el contenido de ácido en el jugo disminuye a medida que la fruta permanece en el árbol. Por su parte, la calidad del pomelo está asociada a la temperatura de producción agrícola.

En general, la temperatura se considera el factor ambiental más importante en la incidencia sobre el color del fruto tanto externo como interno. Necesita temperaturas cálidas durante el verano para la correcta maduración de los frutos. La forma del fruto depende de la humedad relativa; los pomelos cultivados en zonas tropicales o subtropicales tienen una forma aplanada, mientras que los cultivados en zonas más áridas tienen frutos esféricos. No tolera las heladas, ya que sufren tanto las flores y frutos como las hojas y ramas. Presenta escasa resistencia al frío (a los 3-5°C bajo cero la planta muere). No requiere horas-frío para la floración. No presenta reposo invernal, sino una disminución significativa del crecimiento por las bajas temperaturas (quiescencia), que provocan la inducción de ramas que florecen en primavera. Requiere importantes precipitaciones (alrededor de 1200 mm), que cuando no son cubiertas hay que recurrir al riego.

Es una especie ávida de luz para los procesos de floración y fructificación, que tienen lugar preferentemente en la parte exterior de la copa y faldas del árbol. La

fructificación se produce en copa hueca, lo cual constituye un inconveniente al momento de podar. Es muy sensible al viento, sufriendo pérdidas de frutos en precosecha por transmisión de la vibración (Agusti *et al.*, 2014).

En cuanto a suelos se prefiere los arenosos o franco-arenosos, bien drenados, profundos, frescos y sin caliza, con pH entre 6 y 7. No tolera la salinidad, tanto de agua como de suelo. En general la salinidad afecta al crecimiento de las plantas mediante tres mecanismos relacionados entre sí, pero distintos: Las alteraciones hídricas producidas por sus efectos osmóticos sobre la disponibilidad de agua, la acumulación de iones tóxicos y las interferencias con la absorción de elementos nutritivos esenciales, que provocan desequilibrios en el balance de elementos minerales.

En México se producen tres variedades de toronja en diferentes estados del país y se clasifican en tres grupos principales en función del color de la pulpa:

a) Pulpa blanca. En éste se ubica a la variedad Marsh, que tiene una importante demanda en la agroindustria nacional para extracción de jugos y preparaciones de bebidas. También se consume en fresco, sobre todo cuando la oferta de las otras variedades es baja.

b) Pulpa rosa. Ruby Red es la variedad de mayor importancia comercial de este grupo y comúnmente se consume en fresco. En los últimos años ha visto reducida su demanda en el mercado, sobre todo frente a las variedades de pulpa roja.

c) Pulpa roja y doble roja. Entre éstas se encuentran las variedades Star Ruby y Rio Red, que son consideradas las de mayor demanda en el mercado en fresco. Rio Red es la variedad de más reciente incorporación como cultivo en México, pero con gran aceptación, por lo que el área plantada se incrementó en la última década.

La toronja se cultiva en 23 municipios del Estado de Veracruz distribuidos en la zona Centro y Norte. Con base en la estadística agropecuaria registrada por SAGARPA, para el año 2007, el 80% de la superficie cultivada con este cítrico se localizó en los municipios de la zona Norte del estado, destacando Martínez de la Torre con 2,790 hectáreas (Ha) como el principal municipio productor en el estado. Otros municipios productores de toronja son Álamo Temapache (571 Ha), Gutiérrez Zamora (335 Ha) y Tlapacoyan (330 Ha) (García *et al.*, 2010).

### **1.5.2 Aspectos económicos**

Por su importancia comercial la toronja es considerada en la actualidad el cuarto cítrico en el mundo, detrás de la naranja, el limón y la mandarina. Su explotación comercial y el crecimiento del mercado mundial se da a partir de los años sesenta, alcanzando un periodo de auge hasta la primera mitad de los años ochenta. El cultivo de toronja es una actividad reciente en México. Con pequeñas exportaciones a partir de la década de los sesentas, la producción de este cítrico comenzó su

expansión comercial a diversas regiones del país. Hoy en día, la toronja representa una importante alternativa para los productores de cítricos del país, ya que el valor de su producción se ubica solo detrás de la naranja y el limón.

Como se mencionó en el apartado anterior, en México se producen tres variedades de toronja, de las cuales su producción se distribuye en las más de 18 mil hectáreas que están destinadas para su cultivo (Tabla 1.3). Un porcentaje de esta producción está destinado para la elaboración de jugos, mermeladas, licores y suplementos alimenticios, entre otros.

Debido a las condiciones climáticas del país, la mayor producción de pomelo se concentra en el último trimestre del año, lo que permite generar más de 400 mil toneladas durante ese periodo, de lo cual un porcentaje se destina principalmente para la exportación, siendo Francia el principal consumidor de este fruto, seguido de Alemania, Canadá, Holanda, Rusia, Estados Unidos y Japón.

La primera plantación comercial de toronja en México se estableció en los años 60 en Loma Bonita, Oaxaca y después se expandió a los Estados de Veracruz, Tamaulipas, Nuevo León, entre otros. En el año 2008, los Estados que reportaron producción de toronja fueron veinte; sin embargo, fueron tres Estados los que concentraron el 82.3% de la producción total nacional, resaltando entre ellos el Estado de Veracruz (García *et al.*, 2010). Gracias a estas características el país se encuentra entre los primeros lugares como productor a nivel mundial ocupando el quinto lugar después de Estados Unidos, China, Brasil y la India, con una producción total aproximada de cuatro millones de toneladas de este cítrico al año. Igualmente, es importante mencionar que tan sólo en el 2011 en México se cultivaron 397 mil 266 toneladas a lo largo de la República.

La figura 1.6 muestra cómo se entrelazan los diferentes agentes que conforman la dinámica comercial de toronja en sus cuatro niveles (producción agrícola, comercialización, industrialización y mercado internacional). Ejemplifica así mismo la cadena productiva de toronja y su cadena de valor, donde se muestran los distintos eslabones que integran la compleja agroindustria de este producto.

Tabla 1.3 Rendimiento y valor de la producción nacional de toronja para los ciclos agrícolas 2010-2016 (SIACON-SAGARPA, 2018).

Año	Valor de la producción (miles de pesos)	Rendimiento obtenido (Ton/Ha)
2010	538,670	22.81
2011	636,709	22.86
2012	717,572	24.32
2013	647,235	25.27
2014	642,847	26.21
2015	745,320	25.01
2016	960,722	26.51

Tabla 1.4 Producción y rendimiento obtenido para los principales Estados durante el ciclo agrícola 2016 (SIACON-SAGARPA, 2018).

Estado	Producción (Ton)	Superficie cosechada (Ha)	Rendimiento obtenido (Ton/Ha)
Michoacán	45,319	3,188	14.21
Nuevo León	27,705	1,826	15.16
Sonora	15,721	512	30.71
Tamaulipas	54,488	1,728	31.53
Veracruz	258,998	7,280	35.58

Los integrantes de estos cuatro niveles son los agentes productivos: 1) Producción agrícola: ejidatarios, propietarios privados, jornaleros; 2) Comercialización: intermediarios, empacadores locales y bodegas; 3) producción industrial y 4) mercado internacional (Merchand, 2005). Las cuatro instancias se entrelazan, permitiendo observar ventajas competitivas que moldean a la región, hecho que debe plantear las estrategias necesarias para que cada instancia se refuerce a sí misma, lo que permite la funcionalidad de la región y que éste a su vez sea un eslabón que aporta de la cadena productiva a nivel internacional.

### 1.5.3 Aspectos agroindustriales

En la región de Atzalan-Tlapacoyan-Martínez de la Torre se encuentran dos de las principales agroindustrias procesadoras de cítricos. CITREX, empresa que pertenece al grupo ALTEX, dedicada a procesar y posteriormente exportar jugos congelados principalmente de cítricos. CITREX fue fundada en 1988 con el nombre de Citrosol en Martínez de la Torre, Veracruz. En el 2001 se integra como parte del grupo Altex y cambia su nombre a Cítricos Ex S.A. de C.V. (CITREX). La empresa ha seguido creciendo y actualmente procesa ~350,000 toneladas de cítricos al año y produce ~3,342,340 galones de jugo concentrado (principal producto).

CITROFRUT es una compañía agroindustrial que forma parte del Grupo Proeza. Con más de 50 años en el mercado, dedicada a la producción y procesamiento de cítricos y frutas tropicales. Cuenta con viveros, huertas y plantas procesadoras propias, así como centros de distribución logrando una total integración en la cadena de distribución. Actualmente, es líder a nivel nacional en la industria de cítricos y con reconocimiento internacional, debido a la exportación de más del 90% de la producción a diversas empresas dedicadas a la elaboración de bebidas, alimentos, sabores y fragancias alrededor del mundo. Ofrece una amplia variedad de productos cítricos y tropicales cuya gama incluye: jugos, concentrados (orgánicos y convencionales), pulpas, aceites esenciales, cáscaras y purés de la más alta calidad (Tablas 1.5 y 1.6).

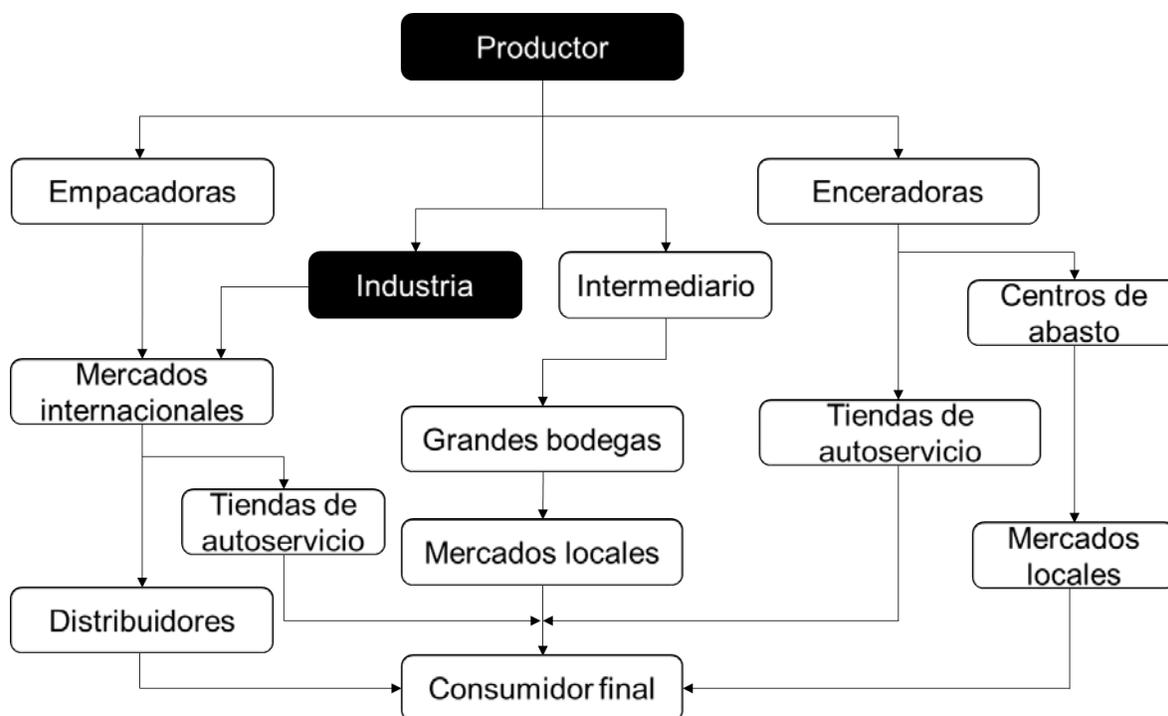


Figura 1.6. Canales de comercialización de toronja (CONCITVER, 2018).

Tabla 1.5. Principales productos cítricos comercializados por CITROFRUT.

CÍTRICOS			
FRUTA	TIPO DE PRODUCTO		
NARANJA	Jugo Concentrado Congelado	Jugo Fresco	Jugo Fresco Aséptico
	Jugo Concentrado Congelado Orgánico	Jugo Fresco Orgánico	
LIMÓN PERSA	Jugo Concentrado Congelado	Jugo Fresco	
LIMÓN ITALIANO	Jugo Concentrado Congelado	Jugo Fresco	
TORONJA BLANCA, ROSA Y ROJA	Jugo Concentrado Congelado		Jugo Fresco Aséptico
TANGERINA	Jugo Concentrado Congelado	Jugo Fresco	Jugo Fresco Aséptico

Tabla 1.6 Productos secundarios que produce CITROFRUT

COLATERALES			
FRUTA	TIPO DE PRODUCTO		
NARANJA	Pulpa Congelada	D'limoneno	Cáscara deshidratada
	Pulpa Aséptica	Aroma	Cáscara Lavada
	Aceite Esencial	Esencia	
LIMÓN PERSA	Pulpa Congelada	D'limoneno	Cáscara deshidratada
	Pulpa Aséptica	Esencia	Cáscara Lavada
	Aceite Esencial		
LIMÓN ITALIANO	Aceite esencial		Cáscara deshidratada Cáscara Lavada
TORONJA BLANCA, ROSA Y ROJA	Pulpa Congelada	D'limoneno	Cáscara deshidratada
	Pulpa Aséptica	Esencia	Cáscara Lavada
	Aceite Esencial		
TANGERINA	Pulpa Congelada	D'limoneno	Cáscara deshidratada
	Pulpa Aséptica	Esencia	Cáscara Lavada
	Aceite Esencial		

Ambas empresas mencionan en su catálogo de productos la comercialización de la cáscara de cítricos, sin embargo, por comunicación personal, se sabe que se usa para la producción de etanol en el mejor de los casos, o se comercializa como fertilizante en la preparación de las parcelas antes de cada ciclo agrícola. Los desechos, producto de la industrialización de los cítricos son confinados a espacios abiertos donde, al entrar en la etapa de fermentación, forman lixiviados con un pH ácido que se filtra en el suelo y subsuelo, contaminando los mantos acuíferos. Estos lixiviados tienen una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO), que hace que posible el crecimiento de cantidades incontables de microorganismos, siendo un foco considerable de infección biológica, insectos, roedores y fauna nociva que ponen en riesgo la salud de la población. Debido a esto, el pH del suelo cambia drásticamente, por lo que muchos microorganismos mesófilos encargados de nitrificar el suelo mueren, lo que lo vuelve inservible para el cultivo agrícola. La solución podría ser la biorremediación, sin embargo, el proceso es lento y costoso (Londoño-Londoño *et al.*, 2010; Madrigal *et al.*, 1996).

Los subproductos en la industria de jugos, constituidos por cáscaras (albedo y flavedo), semillas, membranas y vesículas de jugo, representan aproximadamente el 50% del peso de la fruta entera original. Estos subproductos pueden emplearse en nutrición animal, comercializados en forma de pellets (Rojas *et al.*, 2009). Sin embargo, el contenido de agua en los desechos cítricos es alto, por lo que es difícil y costoso pretender una deshidratación. Tal proceso no es costeable económicamente por los precios de comercialización tan bajos para este tipo de alimentos (Tripodo *et al.*, 2004). Otras alternativas de aprovechamiento son entonces necesarias.

## **1.6 Aceites esenciales**

En los últimos años, ha habido una tendencia considerable de los consumidores para reducir o eliminar los aditivos sintéticos en los alimentos que consumen (Skocibusic *et al.*, 2006). En consecuencia, los investigadores están tratando de encontrar nuevas fuentes de ingredientes y/o aditivos, siendo este el caso de los aceites esenciales. Los aceites esenciales extraídos de plantas y frutas son una mezcla compleja de compuestos tales como hidrocarburos, alcoholes, ésteres y aldehídos. La principal ventaja de los aceites esenciales es que pueden ser utilizados en cualquier alimento y se consideran generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus siglas en inglés) (Viuda-Martos *et al.*, 2008). El aceite esencial de toronja ha sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos 40 años. El impacto de los compuestos que contienen grupos carbonilo en el sabor y la fragancia de aceite esencial de toronja fue reconocido inicialmente y ha sido el objetivo de la mayoría de las investigaciones. Los aldehídos contribuyen al contenido total de compuestos oxigenados siendo referentes importantes de calidad y por ende influyen en el precio de los aceites esenciales (Dugo, 1994; Braddock, 1995; Díaz *et al.*, 2005).

### 1.6.1 Nomenclatura

Se conoce a los aceites esenciales como mezclas complejas de compuestos volátiles, fuertemente olorosos, y producidos por organismos vivos y aislados por medios físicos (presión y destilación) de una planta entera o parte de ella. Así que no todos los extractos olorosos de plantas oleaginosas cumplen con la definición de un “aceite esencial”.

El documento ISO/DIS 9235.2 de la Organización Internacional de Normas (ISO) define a un aceite esencial, correspondiente a materias primas aromáticas naturales, como: “Producto obtenido a partir de materias primas vegetales, ya sea por destilación con agua o vapor, o desde el epicarpio de los frutos cítricos mediante un proceso mecánico, o por destilación seca”.

Los productos obtenidos por métodos de extracción con disolventes y/o con dióxido de carbono (extracción supercrítica) no se consideran aceites esenciales. Asimismo, los productos obtenidos por tratamiento enzimático de material vegetal no cumplen con los requisitos de la definición de un aceite esencial. Existe, sin embargo, al menos una excepción sobre el “aceite esencial” de levadura de vino que se deriva de un microorganismo y no de una planta (Armijo *et al.*, 2012).

Los aceites esenciales se pueden clasificar en función de su consistencia, origen y naturaleza química (Martínez, 2003).

De acuerdo con su consistencia:

- Esencias fluidas: Líquidos volátiles a temperatura ambiente
- Bálsamos: Son líquidos espesos, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.
- Oleorresinas: Poseen el aroma concentrado de las plantas, son muy viscosos o semisólidos.

De acuerdo con su origen:

- Naturales: Se obtienen de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores a la extracción, pero son costosos.
- Artificiales: Se producen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes.
- Sintéticos: Se elaboran por la combinación de sus componentes sintetizados químicamente.

De acuerdo con su naturaleza química:

- Monoterpenoides: Son aquellos ricos en monoterpenos (terpenos de 10 átomos de carbono)
- Sesquiterpenoides: Son aquellos aceites ricos en sesquiterpenos (terpenos de 15 átomos de carbono)

- Fenilterpenoides: Son los que se encuentran mayormente compuestos por diterpenos (terpenos de 20 átomos de carbono).

## 1.6.2 Propiedades organolépticas y características fisicoquímicas

Las propiedades organolépticas están relacionadas con la calidad y la composición química del aceite esencial de toronja, donde la normatividad internacional designa los parámetros a seguir para determinar su calidad. El aceite de toronja es un líquido amarillo claro de agradable olor y sabor, que se asemeja a los aceites de naranja y limón. Al dejarse en reposo o en enfriamiento, se forma un precipitado de color amarillento a marrón, que puede desaparecer por completo al calentarse.

Los aceites de toronja difieren del aceite de naranja prensado en frío en el hecho de que este sedimento parece precipitar en almacenamiento en frío durante un período de aproximadamente sesenta días; de hecho, continúa precipitando durante aproximadamente dos años, pero al menos el 95% del sedimento se separa en los primeros dos meses. Aunque parece voluminoso, el precipitado es de un peso muy ligero, que asciende a solo alrededor del 2% del peso total del aceite (Board, 2011). El aceite esencial de toronja es volátil, suele ser insoluble en agua, pero soluble en grasas, disolventes orgánicos apolares y alcoholes de alta graduación. Presenta una actividad rotatoria característica, debido a que su composición incluye numerosos productos ópticamente activos y la mayoría refractan la luz polarizada, propiedad que es utilizada para su control de pureza, ya que presenta un índice de refracción característico. Se descompone por la exposición a la luz, por lo que es necesario almacenarlo en contenedores herméticos y en la oscuridad para evitar cambios en su composición (Bruneton, 2001).

## 1.6.3 Composición química

### 1.6.3.1 Compuestos volátiles

Existen componentes activos en los aceites esenciales de cítricos, tales como limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno y  $\beta$ -terpinoleno, los cuales exhiben un amplio espectro de actividad antimicrobiana, lo cual se ha comprobado por estudios realizados en plantas (Jirovetz *et al.*, 2005; Magwa *et al.*, 2006; Skocibusic *et al.*, 2006; Matasyoh *et al.*, 2007). Los hidrocarburos monoterpénicos constituyen la porción principal (92%) de estos aceites, siendo limoneno y  $\beta$ -mirceno los principales componentes. Los hidrocarburos monoterpénicos poseen altos niveles de insaturación y son generalmente inestables debido a muchos factores, tales como la luz, el calor, la oxidación y la hidratación (Dugo y Di Giacomo, 2002). Los hidrocarburos monoterpénicos oxigenados representan el 17.7% de los aceites esenciales de la cáscara de toronja fresca (Figura 1.7).

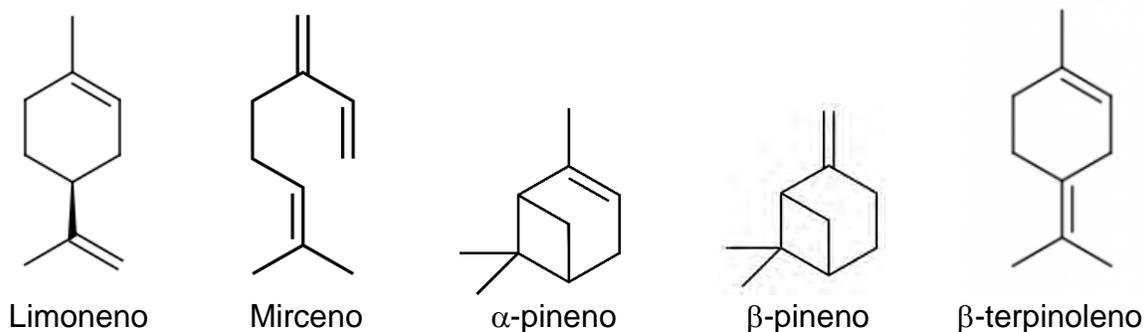


Figura 1.7. Principales terpenoides del aceite esencial de toronja (Dugo y Di Giacomo, 2002).

Se considera que la nootkatona (Figura 1.8) es un compuesto que impacta el sabor en toronja, por lo que se ha sugerido como índice de calidad estándar en aceite esencial de este cítrico. Aunque la nootkatona se considera un agente aromatizante, está claro que otros componentes del aceite modifican el sabor de este compuesto a niveles por encima del umbral (MacLeod, 1966). En el aceite se encuentran otros componentes no identificados, probablemente similares a la estructura de la nootkatona, que se incluyen en el porcentaje total de nootkatona presente en el aceite de toronja, y contribuyen al sabor característico (Stevens *et al.*, 1970). Estos compuestos, al igual que la nootkatona, están presentes en niveles relativamente altos en el jugo concentrado congelado y en el jugo desgrasado. A la nootkatona, en combinación con otros compuestos, como el decanal y el citral que contienen un grupo carbonilo, se les atribuye ser los responsables del sabor del aceite de pomelo de buena calidad (Moshonas, 1971).

Los aldehídos también son importantes para el sabor y aroma del aceite de toronja. Kesterson *et al.* (1971). El decanal y el linalol fueron los dos principales hidrocarburos monoterpenos oxigenados detectados. El decanal es el principal aldehído perteneciente al grupo de aldehídos alifáticos de C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub>, que representa casi el 50% de aldehídos totales contenidos en el aceite esencial de toronja.

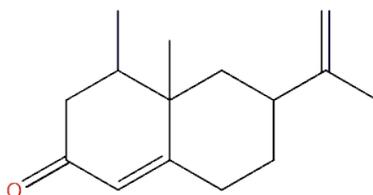


Figura 1.8. Estructura química de la nootkatona (McLeod, 1966)

Otro grupo químico, los sesquiterpenos, entre los cuales β-cariofileno y δ-cadineno son los dos principales componentes encontrados, comprende el 3.58% del aceite esencial de toronja a partir de cáscara fresca. Los sesquiterpenos oxigenados

constituyen el 15% de los aceites esenciales de cáscara fresca, de este grupo de compuestos, la nootkatona es el componente principal con una contribución de 1.3%. (Kamal, *et al.*, 2011; Teixeira, *et al.*, 2013).

### 1.6.3.2 Compuestos no volátiles

El contenido de compuestos no volátiles en el aceite de toronja es alto (hasta más del 4%). Principalmente cumarinas y psoralenos, pero también se encuentran polimetoxiflavonas (Dugo *et al.*, 1999). Las múltiples propiedades farmacéuticas y antioxidantes de los compuestos heterocíclicos oxigenados de los cítricos han sido repetidamente objeto de investigaciones analíticas (Benavente-García *et al.*, 1997). Los psoralenos, a pesar de su fototoxicidad (Forlot, 2000) se usan como agentes contra la psoriasis (Forlot, 1998; Pendino, 1998). Algunas cumarinas se identificaron como inhibidores de la promoción de tumores (Miyake *et al.*, 1999; Takahashi *et al.*, 2002). Las polimetoxiflavonas tienen propiedades reductoras del colesterol (Kurowska *et al.*, 2004) y poseen actividad anti-proliferativa contra las líneas celulares de cáncer en humanos (Manthey y Guthrie, 2002).

La absorbancia en la zona del ultravioleta de las cumarinas, psoralenos y polimetoxiflavonas se emplea comúnmente para su detección e identificación analítica (Frérot y Decorzant, 2004). Entre los componentes polares del aceite esencial de toronja se encuentran: hidrato de meranzina, isomeranzina, polimetoxiflavonas y trazas de citropteno, bergapteno y auraptenol (Figura 1.9), el cual es un compuesto identificado recientemente en el aceite esencial de toronja, ya que hasta ahora solo se había encontrado en el aceite esencial de naranja (Stanley y Jurd, 1971).

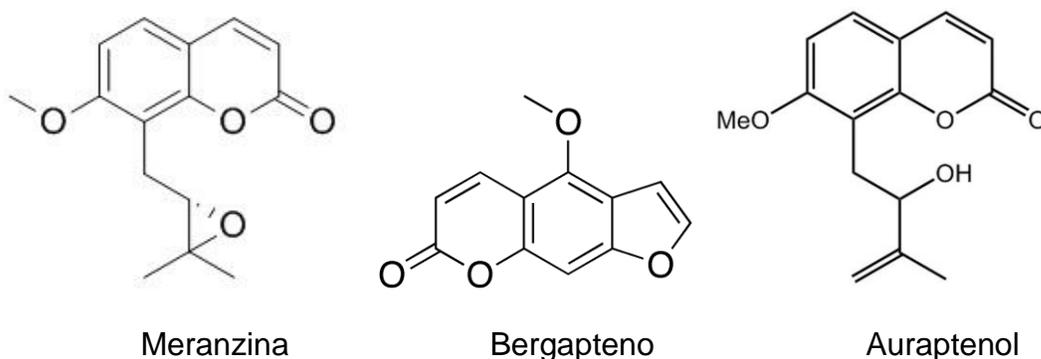


Figura 1.9. Compuestos heterocíclicos oxigenados polares del aceite esencial de toronja (Feger *et al.*, 2006).

La parte no polar de los compuestos no volátiles del aceite esencial de toronja está compuesta principalmente por aurapteno, el componente principal, bergamoteno, ostol, epoxi bergamoteno y epoxi aurapteno (Fig. 1.10).

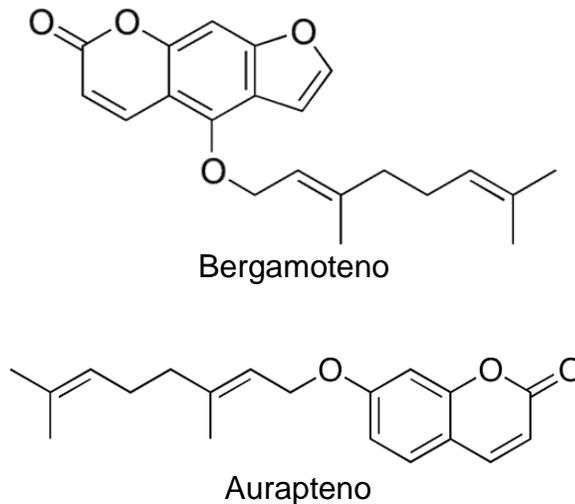


Figura 1.10. Compuestos heterocíclicos oxigenados no polares del aceite esencial de toronja (Feger *et al.*, 2006).

#### 1.6.4 Aplicaciones de los aceites esenciales de cítricos (aceite esencial de toronja)

La razón principal de la expansión de la industria de aceites esenciales cítricos y la creciente demanda de productos fue el desarrollo de la industria alimentaria, cosmética y química (jabones y detergentes). Las compañías multinacionales, principales consumidores de fragancias y aromas han evolucionado directamente de los desarrollos que se llevaron a cabo a mediados del siglo XIX.

El desarrollo de la industria de refrescos es de gran importancia porque es un importante consumidor de aceites esenciales, especialmente los de origen cítrico, siendo el de toronja uno de los principales. Las bebidas producidas por Coca-Cola que se consumen en todo el mundo en una cantidad que supera los mil millones de bebidas por día. Si se considera que el contenido promedio del aceite esencial de cítricos en la bebida es aproximadamente 0.001-0.002%, el consumo diario de aceite esencial de toronja, entre otros cítricos, por parte de esta empresa, ocupa de 3 a 6 toneladas, lo que da un uso anual de alrededor de 2,000 toneladas, tan solo en Estados Unidos. Aunque todas las demás marcas de la industria alimentaria usan cantidades sustanciales de aceite esencial de toronja y demás cítricos en helados, confitería y panadería, en conjunto usan menos aceites esenciales que los fabricantes de bebidas.

Existe una gama especial de productos que puede ubicarse entre los sectores de la industria de la alimentación y la cosmética, que es un gran consumidor de aceites esenciales. Estos son gomas de mascar y todo tipo de golosinas refrescantes para la boca. En 1893 entró en el mercado el chicle Juicy Fruit, producido con aceites esenciales de cítricos; hoy en día, su producto es conocido y consumido en todo el

mundo y su nombre es una marca registrada a nivel mundial. Los siguientes en importancia después de la industria de las bebidas son las industrias de dulces, lácteos, confitería, postres (frescos y en polvo), panadería dulce y cremas, que tienen aceite esencial de toronja entre otros cítricos (Baser y Buchbauer, 2015).

Los antimicrobianos naturales, de origen vegetal, principalmente de los cítricos, muestran propiedades bacteriostáticas /fungistáticos o bactericidas /fungicidas y extienden la vida útil de los alimentos y evitan, entre otras cosas, problemas relacionados con la salud, olores y sabores desagradables, textura o cambios en color, que son básicamente causados por los sistemas enzimáticos o metabólicos de los principales microorganismos que conducen a la alteración de los alimentos (Feng y Zheng, 2007). Piacentini (1948) midió el coeficiente de fenol de los aceites esenciales de toronja, naranja y limón, y encontró que todas presentaban un valor de 0.44. También descubrió que cuando estos extractos se probaron contra diversas bacterias formadoras de esporas, parecían ser más eficaces que el fenol para inhibir el crecimiento.

Los aceites esenciales de diferentes fuentes se pueden explotar como los aditivos naturales en los alimentos. Actualmente se busca mezclar los aceites esenciales con otros compuestos bioactivos para aumentar el uso de estos como antimicrobianos. Se investigan nuevas tecnologías (microencapsulación) para disminuir el olor único e indeseable de los aceites esenciales cítricos (deterpenación) para su aplicación en ciertos alimentos que puede limitar su uso. Como consecuencia, el aceite esencial de toronja puede ser utilizado ampliamente sin ningún efecto negativo sobre las propiedades sensoriales de los alimentos. El desarrollo del sistema de liberación de aceites esenciales cítricos en los sistemas de envasado o en el empaque puede llevarse a cabo para maximizar la actividad de los compuestos activos en los aceites esenciales. Por lo tanto, puede servir en embalaje que extienda efectivamente la vida útil de los alimentos (Tongnuanchan y Benjakul, 2014).

El aceite esencial de cáscara de toronja está compuesto principalmente de limoneno en una proporción >95%, y desempeña el papel principal en la degradación de aceites y grasas. Además del contenido de limoneno, es probable que el efecto lipolítico de los aceites de cáscara se incremente aún más con una cantidad considerable de  $\gamma$ -terpineno y *p*-cimeno. Por otro lado, el terpinen-4-ol y el nerol muestran un efecto lipolítico considerable. Los monoterpenos presentes en el aceite esencial de toronja, que tienen uno o dos dobles enlaces en el anillo, también muestran un alto efecto lipolítico. Se considera que los hidrocarburos monoterpénicos que consisten en uno o dos dobles enlaces como  $\gamma$ -terpineno y limoneno son más fuertes para romper los compuestos lipídicos que los de tres dobles enlaces como *p*-cimeno. El nerol, un monoterpeno de cadena abierta con dos enlaces dobles, presenta un efecto lipolítico mayor que el acetato de geranilo, un monoterpeno de cadena abierta con tres dobles enlaces. Los monoterpenos son productos vegetales predominantes en el aceite esencial de toronja. La mayoría de los monoterpenos acíclicos naturales tienen olores agradables. Estas propiedades

positivas contribuyen al desarrollo de nuevos productos para su uso cosmético en cremas y geles de aplicación local con efecto lipolítico, para la reducción de tallas sin la adición de aromas extra (Choi, 2006).

El uso industrial de aceites esenciales cítricos es un área muy prometedora y se observa un crecimiento regular en el futuro. Se llevan a cabo muchos trabajos de investigación tanto sobre la seguridad de los productos existentes como sobre el desarrollo de nuevos productos que utilizan aceite esencial de toronja dentro de su formulación, en aplicaciones alimentarias, de la salud, asepsia, y cosméticos (Baser y Buchbauer, 2010).

## 1.6.5 Tecnologías de extracción

### 1.6.5.1 Tecnologías tradicionales

El aceite esencial secretado por los tricomas glandulares es principalmente ubicado en el flavedo que es la parte externa de la cáscara de la toronja (Figura 1.11). El aceite esencial se puede aislar usando una cantidad amplia de métodos de extracción, entre los cuales se encuentran el prensado en frío (Lin y Rouseff, 2006), la hidrodestilación, la destilación por arrastre con vapor y la extracción con disolventes orgánicos, los cuales ya se han implementado a nivel industrial (Bousbia *et al.*, 2009).

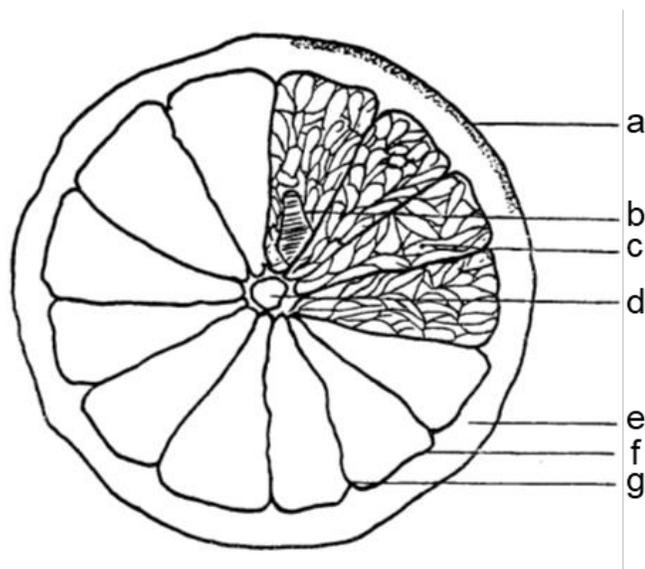


Figura 1.11 Sección transversal de una toronja, que muestra: (a) flavedo con glándulas con aceite; (b) semillas; (c) vesículas de jugo; (d) centro; (e) albedo; (f) gajo; (g) membrana del gajo (Dugo y Di Giacomo, 2002).

#### **1.6.5.1.1 Prensado en frío**

Durante la extracción por prensado, se exprimen los frutos para que se liberen los aceites esenciales de las cavidades oleosas ubicadas en el flavedo de la toronja. Su aplicación se conoce desde 1776. Mecánicamente se punza o ralla la corteza del fruto y se hace pasar una corriente de agua que arrastra el jugo. Posteriormente los aceites esenciales se separan del líquido por decantación o centrifugación (Baser y Buchbauer, 2015).

Sin embargo, los rendimientos son bajos, ya que los aceites quedan adheridos en el flavedo del cítrico y un aumento en la presión ejercida sobre la cáscara no garantiza que haya una liberación del aceite desde el pericarpio. Por otro lado, los aceites extraídos contienen una elevada concentración de polifenoles, por lo que estos aceites están coloreados, lo que afecta la calidad del aceite (Evon *et al.*, 2013; Lin y Rouseff, 2006).

#### **1.6.5.1.2 Extracción por arrastre de vapor**

La extracción por arrastre de vapor es la tecnología más utilizada a nivel industrial. Esta técnica puede considerarse como la más sencilla, segura e inclusive la más antigua. Consiste en la vaporización del agua a una temperatura inferior a la de ebullición de cada uno de los componentes volátiles, que por efecto del contacto directo con la corriente de vapor se ejerce una doble función: calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y reducir la tensión superficial de los componentes volátiles del aceite esencial. Los vapores que salen por la parte superior de la cámara de extracción se enfrían en un condensador, donde regresan a la fase líquida, y siendo inmiscibles se pueden separar en un sedimentador (Bandoni, 2003).

#### **1.6.5.1.3 Extracción por hidrodestilación**

La hidrodestilación es un proceso similar al de la extracción por arrastre con vapor, con la diferencia de que en este caso se mezcla el agua con el material a extraer y se calienta a la temperatura de ebullición del agua; una vez que ésta se evapora arrastra el material oleoso con la ayuda de un aparato de tipo Clevenger, según la Farmacopea Europea. Posteriormente, ésta corriente cambia de fase en un condensador, y al ser inmiscibles, se pueden separar por decantación (Bousbia *et al.*, 2009). Sin embargo, estos procesos tienden a ser delicados ya que las altas temperaturas que se manejan pueden provocar la hidrólisis de los compuestos que contienen grupos carbonilos presentes en los aceites, provocando un cambio en las propiedades organolépticas.

#### **1.6.5.1.4 Extracción por lixiviación**

La lixiviación también se ha utilizado, sin embargo, el uso de disolventes orgánicos está restringido para aditivos orientados al consumo humano, por lo que el uso de este proceso es limitado. Se ha intentado utilizar etanol grado consumo humano, sin embargo, no es inmiscible con los aceites. Asimismo, la extracción con disolvente resulta en rendimientos razonables, pero plantea algunos inconvenientes, como la necesidad de evaporar el disolvente, lo que incrementa el costo del proceso y ocasiona una pérdida de la calidad del aceite esencial. (Brat *et al.*, 2001; Lin y Rouseff, 2006).

#### **1.6.5.2 Tecnologías emergentes**

Las tecnologías convencionales mencionadas anteriormente tienen límites tecnológicos y de escalado que limitan su eficacia y su aplicación comercial. La necesidad cada vez mayor en el uso de procesos de recuperación más eficientes ha conducido a un interés más profundo en los nuevos métodos no convencionales que pueden reducir el tiempo de extracción, temperatura del proceso y consumo de disolvente, contribuyendo así a una mayor eficacia de la extracción y a un menor consumo de energía en comparación con las metodologías convencionales de extracción. Estos procesos son las llamadas tecnologías emergentes, que están siendo actualmente investigadas y, en algunos casos ya aplicadas en la industria alimentaria, pero no obstante siguen siendo técnicas no extendidas debido al alto costo de capital inicial y a consideraciones de seguridad (Rombaut *et al.*, 2014)

##### **1.6.5.2.1 Fluidos supercríticos**

La importancia de la extracción con fluidos supercríticos (EFS) y los procesos de separación han ido en aumento en la industria alimentaria en los últimos años. El dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>, por sus siglas en inglés) ofrece posibilidades inusuales para la extracción selectiva, el fraccionamiento y la purificación de aceites volátiles, gracias a la posibilidad de ajustar la composición variando la densidad del disolvente.

Estas características están relacionadas con el estado supercrítico de los fluidos. A temperaturas y presiones superiores a los 31°C y 7.3 MPa, el gas comprimido (CO<sub>2</sub>) se denomina líquido supercrítico y tiene características duales de líquido y gas. Tiene la densidad de un líquido y solubiliza sólidos como un disolvente líquido, presenta un poder de difusión similar a un gas y se impregna fácilmente a los materiales sólidos. El poder de solubilización aumenta con la densidad del líquido; las densidades altas de un líquido supercrítico son posibles gracias a las altas presiones y le permite disolver grandes cantidades de compuestos orgánicos. Los compuestos disueltos se pueden recuperar del líquido disminuyendo la presión. Este proceso de separación evita la degradación de los compuestos químicos del extracto debido al calor, como puede ocurrir en la destilación por arrastre con vapor

(Poiana *et al.*, 1998). La extracción por fluidos supercríticos de aceites esenciales con CO<sub>2</sub> se ha convertido en una alternativa válida a los procedimientos de extracción más convencionales. Las condiciones tecnológicas requeridas para el uso de la extracción con fluidos supercríticos son onerosas y el alto costo de extracción de compuestos específicos ha limitado su uso. Además, en ciertos casos la eficiencia extractiva del CO<sub>2</sub> supercrítico para analitos específicos es insuficiente en condiciones convencionales (Lucien y Foster, 2000) e inversamente excesiva con la extracción de compuestos indeseables como ceras o resinas vegetales (Guinamant, 1992).

#### **1.6.5.2.2 Expansión al vacío**

La débil permeabilidad de la estructura de las glándulas que contienen los aceites esenciales impide su extracción de manera sencilla, por lo que se requiere un efecto mecánico para promover dicha extracción. La expansión al vacío se considera un proceso termomecánico, al someter el material vegetal a una alta presión de vapor saturado, seguido de una caída de presión abrupta hacia el vacío en un corto período de tiempo, con ello, se promueven procesos térmicos y mecánicos que favorecen la extracción de aceites esenciales. El proceso de expansión al vacío conduce a la ruptura de las paredes de las vesículas, liberando así los aceites que podrían recuperarse a través de un condensador (Rezzoug y Louka, 2009).

Brat *et al.*, 2001, reportó que el proceso de expansión al vacío flash se aplicó a las cáscaras de diferentes especies de cítricos (limón, naranja dulce, mandarina y pomelo) y se obtuvieron rendimientos de aceites esenciales equivalentes a los obtenidos por la extracción por presado en frío y eran ricos en limoneno, sin embargo, los porcentajes de compuestos oxigenados (alcoholes monoterpénicos y ésteres) eran pequeños y la concentración de aldehídos alifáticos permaneció equivalente o aumentó proporcionalmente. Allaf *et al.*, 2013, señaló que el rendimiento de extracción de aceite esencial de naranja utilizando esta tecnología fue superior en comparación con la extracción por hidrodestilación.

#### **1.6.5.2.3 Extracción asistida con microondas**

La extracción con disolvente asistida por microondas es una alternativa viable a las técnicas convencionales para tales matrices. La energía suministrada por las microondas constituye una fuente de calentamiento efectivo sin contacto que permite la extracción de aceites esenciales de materias vegetales, una transferencia de energía más rápida, gradientes térmicos reducidos, calentamiento selectivo, tamaño reducido del equipo, respuesta más rápida al control de calentamiento del proceso, inicio más rápido, aumento de la producción y eliminación de los pasos del proceso (Metaxas y Meredith, 1983; Farhat *et al.*, 2009).

La extracción asistida por microondas sin disolventes (EMSS, por sus siglas en inglés) es una tecnología verde y un método novedoso utilizado para extraer aceites

esenciales de los materiales vegetales. Este método es una combinación de calentamiento por microondas y destilación en seco (Sozmen *et al.*, 2011). La EMSS convencional se realiza bajo condiciones ambientales sin agregar ningún disolvente o agua, por lo tanto, constituye un proceso más simple, rápido y económico (Wang *et al.*, 2006 a, b; Uysal *et al.*, 2010 a, b). El calentamiento interno del agua presente en el material vegetal distiende la matriz, los aceites esenciales son arrastrados por el agua y este proceso libera dichos aceites. El vapor luego pasa a través de un condensador fuera de la cavidad del aparato de microondas, donde se condensa. El destilado se recoge continuamente en un matraz receptor. El agua y el aceite esencial forman un sistema de dos fases. El aceite esencial se separa directamente y se seca sin ningún paso adicional de extracción con disolvente (Lucchesi *et al.*, 2007). No es necesario agregar ningún disolvente o agua a los materiales vegetales frescos, ya que el sistema se calienta como resultado de la absorción de energía de las microondas por el agua presente *in situ* (Bayramoglu *et al.*, 2008).

#### **1.6.5.2.4 Extracción asistida por ultrasonido**

Con el objetivo de obtener rendimientos de extracción mayores y un menor consumo de energía se ha desarrollado una extracción asistida por ultrasonido para mejorar la eficiencia, y a la vez, reducir el tiempo de extracción. La cavitación generada durante la ultra sonicación destruye las glándulas oleosas, facilita la transferencia de masa y la liberación del aceite esencial de la planta. Este efecto de cavitación depende de los parámetros operativos (por ejemplo, frecuencia e intensidad ultrasónicas, temperatura, tiempo de tratamiento, entre otros) que son cruciales en el diseño y operación eficiente de los sono-reactores. Además del aumento en el rendimiento de extracción, los aceites esenciales obtenidos muestran una menor degradación térmica, una alta calidad y buenas propiedades organolépticas (Da Porto *et al.*, 2009; Asfaw *et al.*, 2005). Sin embargo, la elección del equipo debe ser cuidadosa, porque puede presentarse la oxidación y posteriormente reducirse la estabilidad de los aceites esenciales (Pingret *et al.*, 2013). Esta técnica ya ha demostrado su potencial para su escalamiento, ya que muestra un incremento del 44% en el rendimiento de extracción de los aceites esenciales de cítricos en comparación con los métodos tradicionales (Mason *et al.*, 2011).

#### **1.7 Tecnologías de extrusión en equipo de doble tornillo**

El transporte de masa en este tipo de equipo depende principalmente de la fricción existente entre el material, la superficie interna del barril y la superficie del tornillo mediante la rotación del tornillo. Esto no implica la liberación del aceite, ya que no está adsorbido a la pared. Los extrusores de un solo tornillo proporcionan trituración insuficiente produciéndose únicamente un mezclado, si no están equipados con barras rompedoras u otro equipo especial. El proceso en un extrusor de un solo tornillo se utiliza ampliamente para procesar las semillas oleaginosas, con un tornillo de un solo paso variable y profundidad del canal, que gira lentamente (Isobe *et al.*, 1992). Por su parte, los extrusores de doble tornillo son ampliamente utilizados en

el mezclado, la composición y el procesamiento de plásticos. También es un equipo básico para las industrias que elaboran productos agrícolas, tales como alimentos para mascotas, cereales y aperitivos que permiten que se lleve a cabo la extrusión y cocción simultáneamente, en un solo paso (White, 1991; Harper, 1989). La extrusión con doble tornillo involucra la combinación de acciones mecánicas, térmicas y químicas. Este proceso se ha utilizado en el procesamiento de materiales lignocelulósicos y hemicelulósicos. En la literatura se encuentran reportadas otras aplicaciones concernientes a la transformación molecular de proteínas de origen vegetal, por ejemplo, de harina de maíz o de girasol (Colas *et al.*, 2013). Un extrusor de doble tornillo consiste en dos ejes de tornillo paralelo con la misma longitud, que pueden girar en la misma dirección, llamados co-rotatorios, o girar en direcciones opuestas, denominados contra-rotatorios. Los extrusores de tornillo doble también se pueden subdividir en unidades completas, parciales o no engranadas, con base en la posición relativa de los tornillos. La extrusora de doble husillo co-rotatorio y engranado juega un papel importante entre los extrusores (Riaz, 2000). La extracción involucra la ruptura mecánica de las células y es una herramienta eficiente para conducir varias operaciones con un solo dispositivo, por ejemplo, mezclado intenso de la materia vegetal y el disolvente, extracción líquido/sólido y un paso preparativo de separación líquido/sólido al final del equipo.

Por ende, los extrusores de doble tornillo también se pueden utilizar como extractores líquido/sólido (Evon *et al.*, 2009). Como se mencionó anteriormente, este proceso de extrusión involucra tres operaciones unitarias esenciales, las cuales se llevan a cabo en un solo paso y en modo continuo. El filtro se coloca en una sección del túnel o barril para recoger el extracto (conocido como filtrado) y un refinado (torta) sale por separado en la parte final de dicho barril. (Evon *et al.*, 2014).

La acción extrusora de doble tornillo se debe principalmente a los elementos que presentan diferentes funciones: tornillos de paso hacia delante, los cuales producen una acción de transporte, los tornillos de paleta monolobal, que ejercen principalmente compresión radial y acción de cizallamiento, y los tornillos de pendiente inversa (contrafiletes), quienes aplican un cizallamiento intensivo, mezclado y también una fuerte compresión axial en combinación con los tornillos de paso hacia delante. La disposición de los diferentes elementos de los tornillos en distintas posiciones y con diferente separación define la configuración del tornillo, que es el principal factor que influye en la acción de extrusión (que incluye la transformación del producto, la distribución del tiempo de residencia y la energía mecánica requerida para el proceso) (Colas *et al.*, 2013).

Recientemente un grupo de académicos de la Facultad de Química de la UNAM desarrolló un proceso continuo en el que un extrusor de doble husillo equipado con modificaciones especiales fue tomado como base para la implementación de un pretratamiento alcalino de bagazo de agave, conformado por una fase adicional de neutralización y extracción/filtración; así como una fase de impregnación enzimática, en el cual las hemicelulosas y la celulosa comienzan a transformarse en oligosacáridos y azúcares reductores (Vilarem *et al.*, 2013). Este nuevo procedimiento ofrece ventajas superiores porque reduce el consumo de energía al

ser operado a temperaturas bajas, minimiza el consumo de agua, es rápido y adaptable a diferentes biomásas.

Tomando como base que aún existen limitaciones en las tecnologías de extracción de aceites esenciales de cítricos y conociendo las bondades mostradas por el extrusor de doble husillo disponible en el laboratorio, es que surge la justificación o punto de partida para iniciar este proyecto de investigación doctoral. En este trabajo se evaluó la factibilidad técnica y energética de la extracción de aceites esenciales de cítricos, tomando como referencia a la toronja, utilizando un extrusor de doble tornillo. También se valoró la calidad del aceite obtenido con base en la norma internacional ISO 3053:2004.

## **1.8 Hipótesis**

El alto grado de compresión al que es sujeto el material en el extrusor permite alcanzar una rápida liberación del aceite, con la calidad de acuerdo a la norma ISO 3053:2000, en un tiempo corto de procesamiento y en operación continua.

## **1.9 Objetivo general**

Determinar la factibilidad técnica y el requerimiento energético de la extracción de aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi*, Macfadyen) por extrusión en equipo de doble tornillo para analizar su potencial orientado a nivel industrial.

## **1.10 Objetivos específicos**

1. Seleccionar la materia prima de toronja a utilizar en el proceso de extracción en función del tratamiento (extracción manual y mecánica del jugo) o sin estrujamiento alguno (fruto fresco) que permita las condiciones propicias para un rendimiento de aceite esencial favorable.
2. Deshidratar las muestras a una humedad mínima con el propósito de tener propiedades elásticas adecuadas para un trabajo mecánico óptimo en el extrusor, que favorezcan la extracción por arrastre de vapor.
3. Extraer el aceite esencial de toronja utilizando un extrusor de doble tornillo implementando diferentes arreglos y operando a distintas temperaturas y velocidad de giro del doble tornillo, para determinar las condiciones de operación que favorezcan mayor rendimiento de aceite.
4. Establecer las condiciones termodinámicas de extracción necesarias (temperatura y velocidad de giro de los tornillos) en función de las curvas de presión de vapor de agua y limoneno, componente de mayor proporción en

el aceite esencial que permitan el cambio de fase del agua sin afectar las propiedades fisicoquímicas de dicho aceite.

5. Relacionar las características edafoclimáticas (zona geográfica) y de estacionalidad (ciclo agrícola) con el rendimiento de aceite esencial de toronja con el propósito de establecer el tiempo de acopio favorable para la extracción del aceite esencial.
6. Determinar la calidad del aceite extraído mediante las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y químicas que dicta la norma ISO 3053:2004 para valorar el potencial de la extracción de aceite esencial utilizando un extrusor de doble tornillo como tecnología alternativa a las implementadas a nivel industrial.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Extrusor de doble tornillo

La extrusión ofrece grandes ventajas a procesos industriales al combinar diferentes operaciones unitarias en un solo equipo, En este proyecto, el equipo se diseñó y modificó para realizar simultáneamente y de manera continua una serie de operaciones unitarias que incluyen estrujamiento, evaporación, extracción, filtración, condensación y decantación para la extracción de aceite esencial de toronja.

La extracción del aceite esencial se llevó a cabo en un extrusor de doble tornillo (modelo Evolum 25, marca Clextral, Firminy, Francia). El equipo consiste de la entrada o alimentación, la salida o refinado y del filtrado (Figura 2.1) En el extrusor, el usuario puede establecer la configuración del tornillo, la temperatura de cada módulo y la velocidad de giro de los husillos, esta velocidad es inversamente proporcional al tiempo de residencia de la materia prima dentro del extrusor.

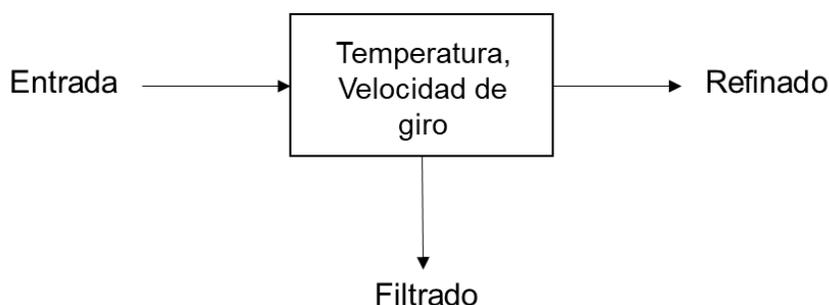


Figura 2.1 Esquema general de la operación unitaria de extrusión.

El equipo consta de 10 módulos con temperatura independiente, de los cuales, el primero es un módulo de alimentación, un módulo es de filtración y ocho módulos para calentamiento independiente (Figura 2.2). El filtro se adaptó en el módulo 4 para efectuar la separación sólido/líquido (Figura 2.3). Dicho filtro está adaptado con una cámara donde se llevó a cabo la condensación del vapor con la consecuente separación del aceite por gravedad. A la salida de la cámara de condensación se conectó a un segmento de tubo de plástico flexible y resistente a temperaturas elevadas para disminuir la distancia entre la salida del tubo de la cámara de condensación y el fondo del vaso receptor, impidiendo la fuga de vapor no condensado. El enfriamiento lo aportaba un vaso Dewar (Pyrex, USA), el cual contenía agua a 5°C alimentada con un baño con recirculación (mod. AT100, Heto-Holten, Reino Unido). El equipo cuenta con un transductor de presión (mod. PT415D, Dynisco Instruments, Alemania) el cual se puede colocar en cualquiera de los módulos y obtener la presión al interior del extrusor en el módulo correspondiente.

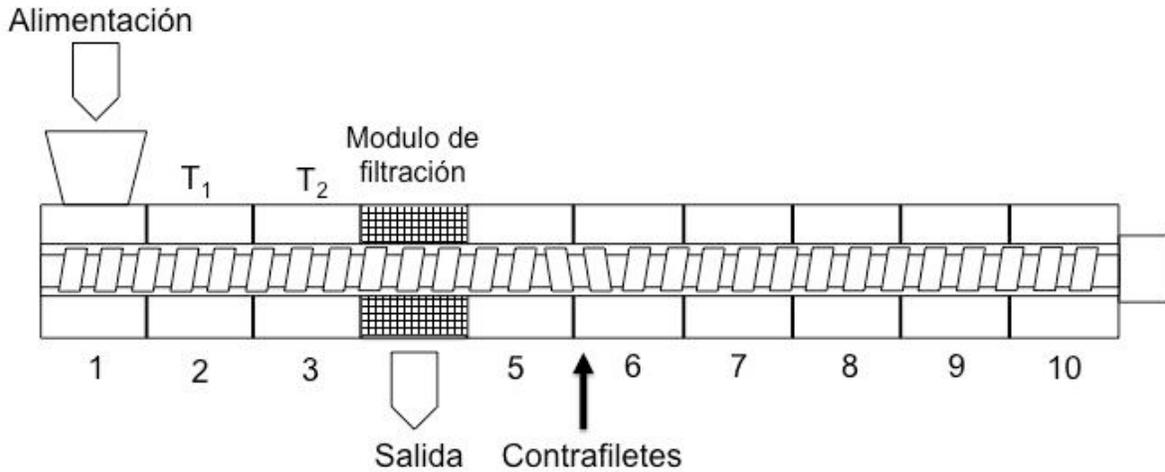


Figura 2.2 Esquema del extrusor.



Figura 2.3 Extrusor.

Con el objetivo de verificar que el refinado no tuviera trazas de aceite esencial se llevaron a cabo análisis de residuos oleosos al material sólido recolectado a la salida del extrusor.

Se estableció un diseño experimental tipo factorial ( $2^n$ ), con tres temperaturas y tres velocidades de rotación del tornillo, esta variable es inversamente proporcional al tiempo de residencia y por ende al tiempo de extracción. Para determinar el efecto del tratamiento en el extrusor se calculó el rendimiento de la extracción de aceite esencial en base seca de cáscara de toronja.

## 2.1.1 Elementos del perfil de tornillos

Existen varios tipos de segmentos de tornillo que tienen efectos diferentes: transporte, mezclado y cizallamiento (Fig. 2.4). Se probaron varias conformaciones de los tornillos para poder llevar a cabo la extracción.

Se configuró un arreglo específico para procesar el material cítrico elegido, el cual estuvo conformado por segmentos de husillo intercambiables, los cuales fueron del tipo transportador, mezclador o cizallante y contrafilete, con cuatro tamaños de paso variable. En los primeros módulos se colocaron husillos de transporte (Figura 2.5) con el propósito de liberar el agua atrapada en los espacios intercelulares y capilares de la cáscara, favoreciendo con ello el proceso de extracción del aceite por arrastre de vapor. Durante el proceso de acondicionado se precalentó el agua atrapada en el material celulósico, expandiendo las cavidades oleosas presentes en el flavedo. Seguidamente se colocaron en el tornillo cuatro segmentos de husillo del tipo “contrafilete” (Figura 2.6) para crear un tapón estable o dinámico que favoreciera el proceso de extracción y facilitara el regreso y salida de la mezcla vapor-aceite por el filtro.

Funciones de los elementos del tornillo					
Elementos	Comentarios	Efecto de mezcla	Efecto de Cizallamiento	Efecto Transportador	
C2F / T2F		+	+	+++	
C1F / T1F		+	++	+++	
CF2C		++++	++++	----	
CF1C		++++	+++++	----	
MAL0		Positivo	++	+++	+
		Negativo	+++	++++	-
MAL2		90 grados	++++	++	0
		Positivo	+++++	++	+
		Negativo	+++++	+++	-

© CLESTRAL. This document is the property of CLESTRAL, and is protected by the intellectual and industrial property rights and regulations. It cannot be copied, reproduced or disseminated without the written consent of CLESTRAL. All cases should be referred to the company CLESTRAL, using the right to modify the document without prior notice.

**CLESTRAL** A DIVISION OF **GRUPO ALFA LACTEAS INDUSTRIES**

Figura 2.4 Funciones de los elementos del tornillo (Cleextral, 2018)

Este tipo de extracción sólido/líquido ocurre por un mecanismo similar a la destilación por arrastre de vapor, donde el agua atrapada que se encuentra en la matriz vegetal es liberada y pasa a la fase vapor, mientras que las microesferas de aceite son liberadas por la acción de la presión ejercida por el tapón que se forma en los contrafiletes colocados en una sección posterior a la zona de filtración. Estas microesferas se dispersan en el vapor que las arrastra hacia el filtro que es la salida facilitada a presión atmosférica más cercana. Los cuatro módulos restantes de transporte hasta la salida del equipo se equilibraron a temperatura ambiente.

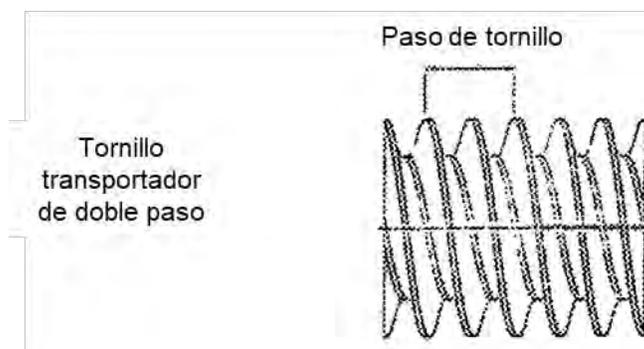


Figura 2.5 Tornillo de transporte (Clextral, 2018).

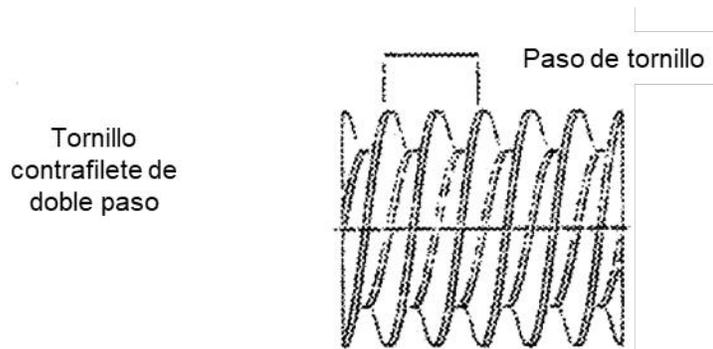


Figura 2.6 Tornillo contrafilete (Clextral, 2018).

## 2.2 Materia prima

La toronja fue el cítrico que se eligió para este trabajo. Su periodo de producción agrícola abarca desde noviembre hasta febrero. El producto fresco se adquirió en la Central de Abastos de la Ciudad de México, considerando las características físicas del fruto. Por comunicación personal de los comerciantes, se sabe que el cítrico producido en huertas ubicadas en Tampico, Tamaulipas es la variedad doble roja. En el laboratorio se retiró la cáscara y se cortó en cuadros de un centímetro de longitud aproximadamente. Se separaron en bolsas herméticas de 0.5 kg de cáscara picada para cada prueba.

### 2.2.1 Determinación de la humedad

Al inicio de los experimentos se utilizó un secador de convección forzada (modelo MO1430A1, marca Lindberg Blue M, Alemania), Se construyó la curva de secado correspondiente y se determinó la humedad crítica. Los experimentos iniciales, se llevaron a cabo utilizando cáscara con humedad mínima o cuasi-crítica, a un tiempo de secado de 60 min.

Para los experimentos a humedad nativa, se utilizó una termobalanza (modelo MF-50, marca A&D, Japón), la cual opera a 100 °C, temperatura menor al punto de ebullición del limoneno, componente mayoritario del aceite esencial (176 °C), por lo que se descarta pérdida de peso por descomposición de volátiles.

### 2.3 Rendimiento másico de extracción

Se midió la cantidad de aceite extraído (*AE*) en mililitros (*mL*), y con los datos de alimentación másica y de humedad relativa (*HR*) de la muestra se determinó el rendimiento másico de la extracción utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (mL AE/g cáscara)} = \frac{\text{mL AE}}{500 \text{ g} \left( \frac{100 - \%HR}{100} \right)}$$

Asimismo, se calculó la productividad técnica de la extrusión mediante la siguiente expresión:

$$\text{Productividad técnica} = \frac{\text{g AE}}{\text{kg de cáscara BS} \times \text{min}}$$

Se midió la cantidad de aceite extraído en g (*g AE*), durante un lapso (minutos) en que se alimentaron 500 g de cáscara en base seca.

### 2.4 Caracterización fisicoquímica del tapón

Una vez concluida cada corrida de extracción, fue removido el tapón dinámico ubicado en la zona de compresión y se le determinaron las siguientes pruebas físicas y químicas.

#### 2.4.1 Índice de dureza

Esta determinación tuvo como objetivo validar la compactibilidad del material que forma los tapones dinámicos. Se empleó un Analizador de textura (mod. CT3rr6, Brookfield, USA), el cual fue facilitado por el Laboratorio de Superficies del Departamento de Fisicoquímica, FQ, UNAM. Para este análisis, la prueba

seleccionada en el equipo fue *stress strain test* (Watson, 1966; Hernández-Meléndez *et al.*, 2009), la fuerza de impacto fue 0.5 g, la distancia de deformación fue 3.00 mm y la velocidad de impacto fue 0.3 mm/s.

#### 2.4.2 Contenido de pectina

Para llevar a cabo la extracción de la pectina (Figura 2.7) se tomaron 2.5 g del tapón generado dentro del extrusor y se colocaron en un matraz de fondo redondo y se mezcló con 50 mL de una disolución acuosa de ácido cítrico 1 N a una temperatura de 80°C durante 60 min. Para precipitar la pectina, la fase sólida se separó con ayuda de papel filtro (Whatman No. 1, Inglaterra) y se recuperó la fase líquida, la cual se mezcló con etanol al 96° G.L. frío con una relación: 8 mL de etanol/10 mL de muestra. El precipitado se recuperó con una malla de algodón y se deshidrató en una estufa de secado por convección forzada a 40°C (Lindberg/blue, USA) hasta tener un peso constante. La pectina seca se pesó y se expresó el rendimiento de la extracción sobre una base de 100 g base seca de tapón (Kurita *et al.*, 2008).

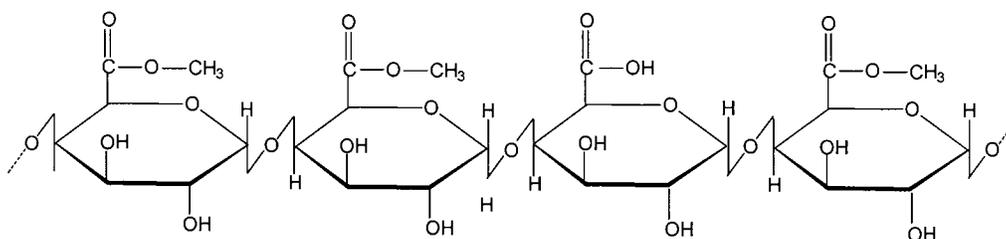


Figura 2.7 Estructura general de la pectina. El monómero es el ácido galacturónico.

#### 2.4.3 Azúcares reductores

Esta prueba se propuso para determinar el grado de hidrólisis térmica que sufre la pectina por las condiciones de operación a la cual se lleva a cabo la extracción del aceite esencial. Se realizó una curva patrón pesando 2.5, 5.0, 10.0 y 15.0 mg de glucosa/mL de disolución, utilizando agua destilada. Se tomaron 50  $\mu$ L del líquido resultante de la precipitación etanólica de la pectina, se mezclaron con 100  $\mu$ L de agua y 300  $\mu$ L de reactivo DNS. Se colocaron en agua a ebullición durante 4.5 minutos, con agitación moderada y uniforme. Se detuvo la reacción con agua y hielo durante 5 minutos. Se agregaron 3 mL de agua destilada y se midió la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro (mod. Unico S2150, Cole Parmer, USA). Con la ayuda de la curva patrón se calculó la concentración de azúcares reductores presentes en cada muestra (Miller, 1969). Se multiplicó el valor anterior por el volumen total de líquido en el matraz y el resultado se dividió entre el peso seco de tapón inicial.

#### 2.4.4 Viscosidad

Existe una relación directa entre la viscosidad de la pectina en disolución con respecto a su masa molecular y la estructura de las moléculas de ácido poligalacturónico presente en las disoluciones. Diversas aplicaciones prácticas, como la formación de geles, están directamente relacionadas con la viscosidad (Owens *et al.*, 1944). Se consideró medir la viscosidad de disoluciones porcentuales del material del tornillo, y relacionarla con la concentración de la pectina en el tapón interno. Se utilizó un viscosímetro (mod. Dv-II+ Pro, Brookfield, USA), utilizando el husillo número 7, debido a que la mezcla que se formó era muy viscosa. Se obtuvo la viscosidad variando la velocidad de corte. Se prepararon disoluciones al 10% p/p con el material recuperado del tapón contenido en el interior del extrusor y se separó el líquido de la fase sólida de la muestra utilizando una centrifuga (mod. XC-2000, Labtek, China), con una velocidad de 4000 rpm durante 8 min. El sobrenadante se separó por decantación y se determinó la viscosidad a diferentes velocidades de corte, a una temperatura promedio de 40°C.

#### 2.5 Productividad energética de la extracción

El extrusor cuenta con un programa de computo que mide la potencia eléctrica en cada uno de los módulos (un máximo de 1.1 kilowatt/módulo @ 480 V). Mediante el programa puede integrarse el área bajo la curva de la variación de potencia suministrada con respecto al tiempo de proceso y registrarse un valor promedio de consumo de energía en kW·h. Con este valor se pudo obtener la productividad energética a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Productividad energética} = \frac{kW \cdot h}{g \text{ AE}}$$

#### 2.6 Caracterización fisicoquímica y química del aceite esencial obtenido

Utilizando la norma internacional ISO 3053:2004 denominada “Aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* Macfad.) obtenida por prensado” se llevó a cabo la determinación de compuestos volátiles y no volátiles por cromatografía de gases y cromatografía de líquidos de alta resolución, respectivamente. Así como la caracterización fisicoquímica. Con el propósito de tener un valor de referencia, se aplicaron las pruebas correspondientes al aceite esencial de toronja grado analítico de la marca Sigma-Aldrich, el cuál es extraído por prensado en frío (según consta en la hoja de seguridad del reactivo) y corresponde a la Norma Internacional ISO 3053:2004. Estos resultados se compararon con los obtenidos en este trabajo y aunque no son cualitativos se mencionan tal como se presentan en la normativa ISO que contempla las siguientes características:

### **2.6.1 Propiedades sensoriales: Apariencia, color y olor**

Estas tres características son totalmente sensoriales y dependen de la persona que realice dichas pruebas, las cuales se consideran subjetivas y empíricas, ya que no tienen un nivel de medición que sea objetivo.

### **2.6.2 Densidad relativa a 20 °C**

El método consiste en determinar la masa a volúmenes iguales de agua y de aceite o grasa vegetal o animal que se utilizaron para calcular la relación entre ambos valores, bajo condiciones específicas de temperatura: 20°C para aceites y 40°C para grasas (ISO 279). La densidad relativa se midió con un densímetro digital (mod. DMA 3N, Anton Parr, Austria), para cada una de las muestras de aceite esencial de toronja considerando una temperatura de 20°C.

### **2.6.3 Índice de refracción a 20 °C**

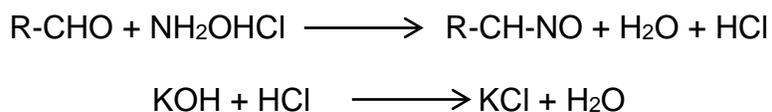
El método se basa en la determinación del índice de refracción, ya sea por medida directa del ángulo de refracción, o bien, por la observación directa del límite de reflexión total, manteniéndose la sustancia dentro de las condiciones de isotropismo y transparencia (ISO 280). Se utilizó un refractómetro de Abbé (mod. 33188, Carl Zeiss, Alemania) con escala graduada directamente en términos de índice de refracción de 1.3000 a 1.7000, con precisión de  $\pm 0.0002$ , compensado a la línea D del sodio. Se limpió el cristal con acetona y posteriormente se colocó la muestra de manera uniforme para evitar errores en la medición. Se contó con un baño a temperatura controlada de 20 °C con recirculación (mod. Alpha RA8, Lauda, USA).

### **2.6.4 Rotación óptica a 20 °C**

El método se fundamenta en la propiedad que poseen algunas sustancias de modificar el plano de vibración de la luz polarizada, de tal forma que el rayo emergente tiene un valor angular medible con respecto al plano formado por la luz incidente (ISO 592). Se utilizó un polarímetro (mod. 343, Perkin Elmer, EUA) que se ajustó con una disolución acuosa de sacarosa anhidra conteniendo 26 g en 100 mL de disolución, previo a las pruebas con el aceite esencial. La fuente de luz del polarímetro es monocromática con vapores de sodio de longitud de onda de  $589.3 \pm 0.3$  nm y la muestra se insertó en un tubo de vidrio de 100 mm  $\pm 0.05$  mm.

### 2.6.5 Contenido total de aldehídos (como porcentaje de decanal)

Método potenciométrico del clorhidrato de hidroxilamina (ISO 1271). Este método se basa en la reacción de los compuestos carbonílicos con el clorhidrato de hidroxilamina, en la cual se libera ácido clorhídrico que se valora con álcali, de acuerdo con las siguientes reacciones:



Se pesaron 22.5 g de clorhidrato de hidroxilamina (Sigma-Aldrich, USA) en 65 mL de agua destilada. Se añadieron lentamente 425 mL de alcohol etílico (marca Merck, USA). Se neutralizaron con una disolución acuosa de hidróxido de potasio, KOH, 0.1 N (Sigma-Aldrich, USA), hasta alcanzar un pH de 3.5 antes de utilizarla. Se mezclaron 35 mL de la disolución de clorhidrato de hidroxilamina y 1 g de aceite esencial. Se agitaron por 3 min y posteriormente se neutralizaron con la disolución de KOH 0.1 N hasta que se alcanzó un pH de 3.5. Se midió el volumen gastado y se ocupó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ decanal} = \frac{\text{mL KOH} \times 0.1 \text{ N} \times 100}{\text{g de aceite esencial}}$$

### 2.6.6 Residuo a la evaporación

El método se basa en la medición de la diferencia en peso de la muestra al pasar por un proceso de calentamiento controlado, durante el cual se evaporan las sustancias volátiles (ISO 4715). Se pesaron 5 g de aceite esencial y se colocaron en una cápsula de vidrio (PYREX, USA), a peso constante. Se colocó en un baño de vapor durante 5 h con ayuda de una parrilla de calentamiento (modelo Cimarec, marca Thermo Scientific, USA). Posteriormente, se secó el exterior de la cápsula y se dejó reposar por 0.5 h en un desecador, se pesó y aplicó la ecuación:

$$\% \text{ a la evaporación} = \frac{\text{g del residuo}}{\text{g de la muestra}} \times 100$$

### 2.6.7 Perfil cromatográfico. Compuestos volátiles

Los aceites esenciales de cítricos, incluidos el de toronja, se caracterizan por contener dos fracciones de compuestos: los volátiles y los no volátiles. Ambas fracciones se componen de más de 200 compuestos. Los compuestos volátiles, representan el 85% a 99% de todo el aceite, están bien caracterizados y reportados en la literatura. Esta fracción se compone principalmente de hidrocarburos monoterpenos y sesquiterpenos, sus derivados oxigenados y aldehídos alifáticos, alcoholes y ésteres. (Dugo y Mondello, 2010).

La cromatografía de gases refleja la compleja composición de los componentes más volátiles del aceite esencial logrando cada vez un mayor número de componentes identificados, particularmente los terpenoides, como el limoneno, principal compuesto en los aceites esenciales de cítricos, además de aldehídos, cetonas y alcoholes.

Se utilizó un cromatógrafo de gases (mod. 200, Ellutia GmbH & Co., Alemania) y una columna (mod. ZB-5, Phenomenex, USA). La fase estacionaria es poli (5% difenil/95% dimetil siloxano), con un espesor de la fase estacionaria de 1  $\mu\text{m}$ , un diámetro interno de 0.32 mm y una longitud de 30 m. Se estableció una temperatura isotérmica de 75°C por 5 min, seguido de una primera rampa de 75°C a 100°C, con una rapidez de calentamiento de 5°C/min. Posteriormente se programó una segunda rampa de 100°C a 220°C, con una rapidez de calentamiento de 6°C/min para terminar con una temperatura isotérmica de 220°C por 8.5 minutos.

Las temperaturas fueron: Para el inyector: 230°C y para el detector: 260°C. Se utilizó un detector de ionización de flama y el gas acarreador fue helio grado cromatográfico (Praxair, México). Se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de muestra con una jeringa de vidrio de 10  $\mu\text{L}$  (Hamilton, USA) y el flujo del Split fue de 52.5 mL/min. Se inyectaron tres estándares de  $\alpha$ -pineno, mirceno y limoneno (Sigma-Aldrich, USA), compuestos de mayor porcentaje presentes en el aceite esencial de toronja para poder identificar los picos resultantes de las muestras. Se normalizaron las muestras diluyendo el aceite en cloroformo grado reactivo analítico (Merck, USA) a una razón de 1:4. Los perfiles cromatográficos obtenidos se compararon con el aceite esencial de toronja grado reactivo analítico y con los valores máximos y mínimos presentes en la norma ISO 3053:2004.

## **2.6.8 Perfil cromatográfico: Compuestos no volátiles**

El residuo no volátil de aceites de toronja representa 1% al 15% del aceite, contiene hidrocarburos, esteroides, ácidos grasos, ceras, carotenoides, cumarinas, psoralenos, y flavonoides (Dugo y Mondello, 2010).

Mediante cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC, por sus siglas en inglés) se llevó a cabo el estudio de los componentes de la fracción no volátil, identificándose un número importante de éstos, entre los que se encuentran las cumarinas y los flavonoides (limonoides). La identificación de los constituyentes químicos funcionales de los productos naturales de alto valor es importante para definir su uso y determinar su calidad.

Se llevó a cabo una prueba en Espectrofómeto UV-Vis (mod. Lambda 2S, Perkin Elmer, USA) para evaluar la longitud de onda a la cual se presenta la mayor absorbancia en el aceite esencial de toronja, utilizando iso-octano grado reactivo analítico (Sigma-Aldrich, USA) como disolvente, de acuerdo con el Codex

Alimentarius. Se realizó un barrido de 700 nm a 200 nm, para abarcar el área de luz visible (400 nm – 700 nm) y el área de luz UV (200-300 nm).

Para las pruebas de identificación de compuestos no volátiles se utilizó un HPLC, equipado con módulo para columna (mod. Series 1200, Alligent, USA), bomba cuaternaria (mod. Series 1100, Hewlett-Packard, USA) y detector de arreglo de diodos (mod. G1315A, Hewlett-Packard, USA).

Se utilizó una columna C18 Simmetry (Waters, USA), con una fase estacionaria de sílica, un tamaño de poro de 100 Å, diámetro interno de 4.6 mm, y longitud de 250 mm. Esta metodología cromatográfica fue cualitativa, para identificar los compuestos no volátiles, tales como cumarinas y furocumarinas,

Se utilizaron agua y acetonitrilo como eluyentes, con un flujo de 1.5 mL/min. Se inyectó un volumen de 5 µL, y se utilizó un detector UV (mod. G1315A, Hewlett-Packard, USA) con dos longitudes de onda: 280 y 313 nm.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 Diseño y modificación del extrusor de doble tornillo**

Como se mencionó en el apartado 2.1, el filtro se colocó en la posición 4, esto obedece a que el tiempo de residencia en el extrusor debe ser muy corto, para evitar que el material celulósico se triture en demasía, formando un lodo espeso que dificulta la separación aceite/biomasa.

En un inicio se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de determinar, cuáles son los parámetros más importantes que considerar para la extracción de aceite esencial en cítricos. Se corroboró que la temperatura, la presión y el tiempo son las variables significativas en todas las tecnologías de extracción de aceites esenciales. A partir de estas tres variables se hicieron los diseños experimentales y los gráficos de superficie combinados para ver su efecto en el rendimiento de los procesos. También se concluyó que la eficiencia de extracción es más sensible a la combinación de las variables tiempo/temperatura y tiempo/presión. Sin embargo, ya que en el extrusor no se puede definir una presión específica, dichos diseños se hicieron en función de la temperatura y de la velocidad de giro del tornillo, misma que determina el tiempo de residencia en el extrusor.

Se llevaron a cabo experimentos preliminares para encontrar las condiciones de extracción para naranja denominada “Copilco”, la cual, como se mencionó anteriormente no es prensada en forma tan exhaustiva como la que ocurre en el proceso industrial.

##### **3.1.1 Diseño de la conformación del tornillo**

Tomando como base la experiencia previa, se probaron diferentes propuestas de configuración. Los segmentos de transporte fueron seleccionados para contactar/mezclar las fases; para este caso cumplen una doble función: transportar y crear la compresión suficiente para estresar las vesículas oleosas del flavedo del cítrico. La acción de las resistencias eléctricas del reactor genera vapor *in-situ* a partir del agua presente en el residuo, el cual permite la extracción del aceite esencial mediante una operación de arrastre.

Los segmentos contrafiletes son los responsables de generar un tapón dinámico, el cual genera la presión necesaria para que se lleve a cabo la extracción del aceite por expresión y un simultáneo arrastre de vapor. Se ensayaron múltiples posiciones para los contrafiletes con la finalidad de evitar la formación de un filtrado líquido espeso conteniendo partículas finas de difícil separación en la mezcla aceite/agua, quedando estos recorridos al final del módulo 5. Con esta modificación, el filtrado resultante es transparente y se puede llevar a cabo la separación del aceite esencial por simple decantación.

El arreglo seleccionado incluyó una primera sección que tuvo el efecto de transportar y liberar el agua atrapada contenida en los espacios intercelulares y los capilares. La ubicación de los componentes y su tipificación se presentan en la Figura 3.1 y la Tabla 3.1.

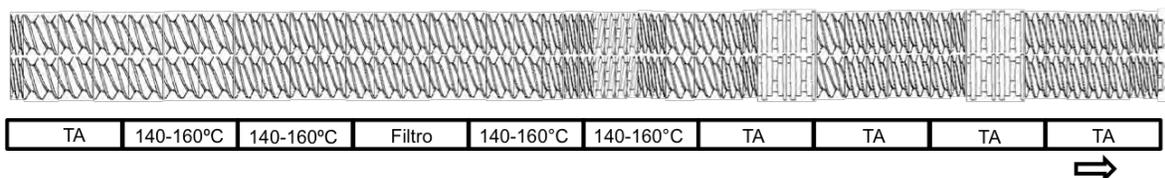


Figura 3.1 Perfil del tornillo usado para la extracción de aceite esencial de toronja.

Tabla 3.1 Componentes de los módulos que conforman el tornillo usado para la extracción.

Módulo	Tipo	Longitud (cm)
1	C2F	1.250
	C2F	3.125
	C2F	3.125
	C2F	3.125
2	C2F	3.125
	C2F	3.125
	C2F	3.125
3	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	2.500
4 En este módulo se incluye el filtro	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	2.500
5	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	2.500
	C2F	1.875
	C2F	1.250
6	CF2C	1.250
	C2F	1.250
	C2F	1.250
	C2F	2.500
7	C2F	2.500
	C2F	1.875
	C2F	1.250
	BL 22 (45°)	2.500
	BL 22 (90°)	2.500

8	C2F	2.500
	C2F	1.875
	C2F	1.875
	C2F	1.875
9	C2F	1.875
	C2F	1.875
	C2F	1.250
	BL 22 (45°)	2.500
	BL 22 (90°)	2.500
10	C2F	1.875
	C2F	1.875

El agua libre que se encuentra en la matriz vegetal se vaporizó con ayuda del calentamiento de los módulos del extrusor, creando la presión necesaria que en conjunto con la presión mecánica ejercida por el tapón dinámico (formado por acción de los cuatro segmentos contrafiletes) libera el aceite contenido en las vesículas oleosas de la cáscara. Este aceite fue arrastrado por el vapor de agua y regresado por el túnel del extrusor hasta el filtro, donde por medio de la cámara de condensación permitió su decantación por diferencia de densidades.

### 3.2 Diseño experimental

Las temperaturas de operación que se establecieron en el equipo respecto al primer diseño experimental fueron: 120, 125 y 130 °C y las velocidades de giro del tornillo: 60 y 80 rpm. Bajo estas condiciones el sistema operaba de manera inestable, porque no se alcanzaba a conformar un tapón dinámico que resistiera el aumento de presión interior, lo que traía como consecuencia la formación de una pasta suave que permitía el paso de sólidos suspendidos, resultando en un líquido aceitoso turbio.

Se procedió entonces a establecer un diseño factorial  $2^n$ , con tres niveles y se establecieron las siguientes temperaturas: 140, 150 y 160 °C, elegidas en función de la curva de presión de vapor del agua y del limoneno, componente principal en el aceite esencial de toronja (Apartado 3.5). También fueron seleccionadas de manera empírica dos niveles para la velocidad de giro, 60 y 80 rpm, en función de la facilidad de movimiento del material en el interior del tornillo.

### **3.3 Materia Prima**

En el protocolo de doctorado se mencionó el uso de cítricos de tercera calidad conforme a la normatividad correspondiente para cada caso, sin embargo, se decidió utilizar los desechos agroindustriales, que para este trabajo son proporcionados por CITREX (naranja valencia y toronja var. doble roja) y CITROFRUT (limón persa), - ambas situadas en la región de Martínez de la Torre – San Rafael, Ver.

Se propuso ocupar un cítrico con tres tipos de pretratamiento: la primera, denominada nativa es aquella con un mínimo manejo postcosecha y fue adquirida en la Central de Abastos de la Ciudad de México. La segunda, con un proceso primario que incluyó procesado moderado, como segmentado y estrujado, sin dañar de manera significativa la cáscara, se obtuvo de los negocios de jugos cercanos al metro Copilco a las afueras de Ciudad Universitaria, México. La tercera consistió en el residuo agroindustrial que pasó por un proceso intensivo de rayado y estrujado en la planta de producción, con ruptura visible de la cáscara. Esta última fue proporcionada por CITREX Fx y CITROFRUT, las dos empresas procesadoras de cítricos de la región y ubicadas en el municipio de Martínez de la Torre, Veracruz.

Con el objeto de minimizar la variabilidad estacional y agronómica de la materia prima y buscar la mayor homogeneidad posible, se decidió trabajar la extracción con Toronja como fruto cítrico modelo, considerando la información bibliográfica reportada y la disponibilidad de la materia prima. La producción nacional de toronja inicia en octubre, por lo que a partir de ese mes se inició el acopio del material de la Central de Abastos de la Ciudad de México. Por lo que todos los experimentos se realizaron por septuplicado.

### **3.4 Experimentos preliminares con humedad nativa y humedad reducida**

Se realizó una cinética de secado para obtener los tiempos de deshidratación necesarios para que la cáscara de toronja tenga humedades cercanas a la crítica (Figura 3.2). Se llevaron a cabo múltiples ensayos considerando diferentes porcentajes de humedad en la materia prima. Se llegó a la conclusión de que se requiere una humedad máxima del residuo en un intervalo de 40-45%, para que se forme el vapor de arrastre necesario. Cantidades de agua mayores hacen que se forme un lodo que estabiliza la suspensión y complica la separación de la fase acuosa de la oleosa.

Se realizaron experimentos con toronja fresca y con toronja a humedad reducida para comparar el rendimiento y calidad de ambas muestras. En estos casos se alimentaron 500 g de cáscara por experimento. Se obtuvieron rendimientos similares en ambos materiales, sin embargo, las propiedades sensoriales, principalmente el color, del aceite obtenido de la cáscara con humedad mínima presentaba tonos coloridos (Figura 3.3), por lo que se optó por trabajar con toronja fresca, eliminando con esto, un paso del proceso.

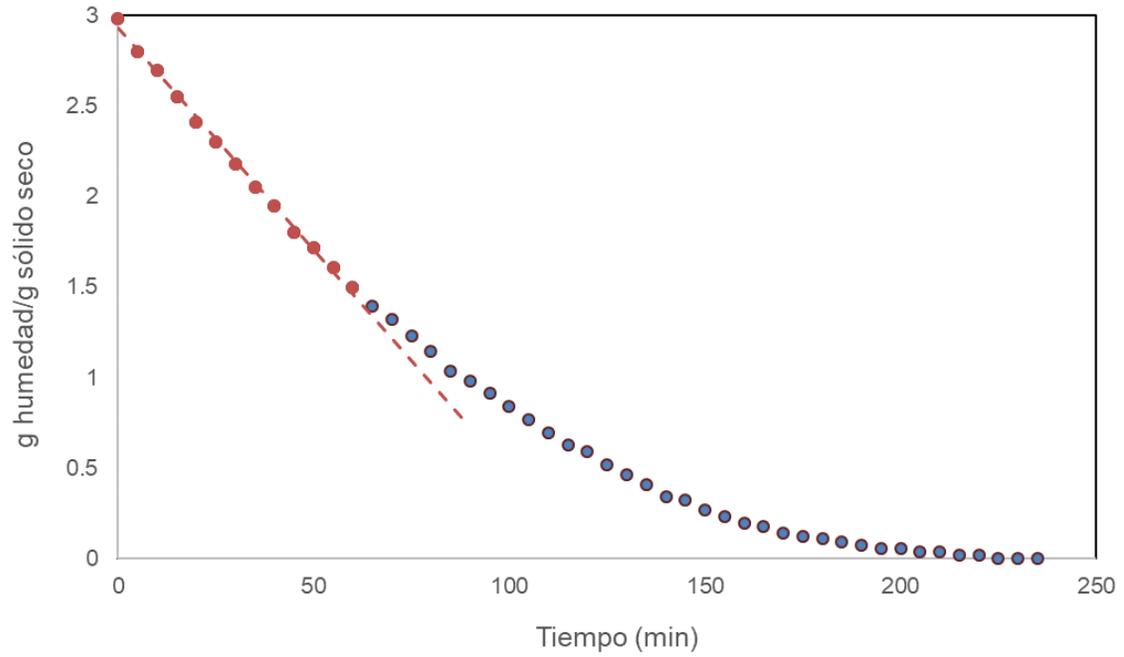


Figura 3.2 Curva de secado para cáscara de toronja. La línea punteada muestra la humedad crítica al cambiar la pendiente de la recta.

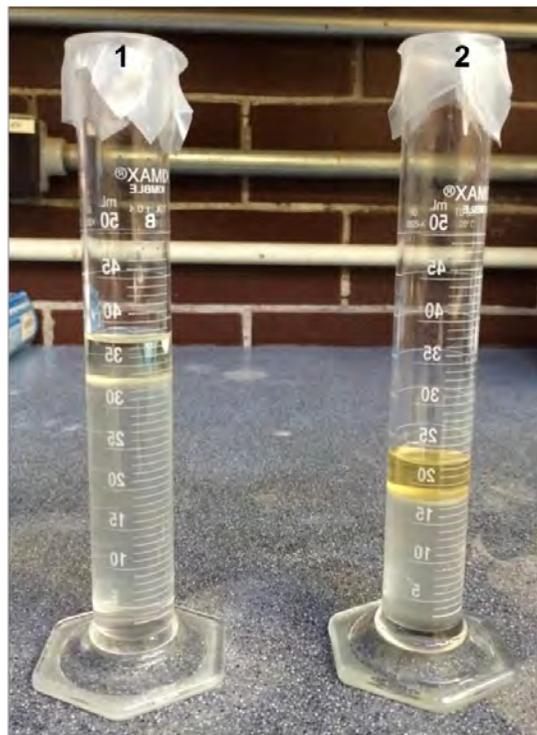


Figura 3.3 Aceite obtenido de cáscara de toronja con diferente humedad:  
1. Humedad nativa; 2. Humedad reducida

### 3.5 Consideraciones fisicoquímicas

Para justificar las condiciones de operación (temperatura y presión) fue necesario ubicarlas en una gráfica de presión de vapor. Para los aceites esenciales, la presión de vapor se tomó en función del limoneno, que es el componente mayoritario. Respecto al aceite esencial de toronja, se tiene reportado un porcentaje de limoneno de ~94% obtenido por hidrodestilación (Poiana *et al.*, 1998)

Para evaluar el efecto de la presión sobre la extracción de aceites esenciales durante la extrusión se utilizó la ley de Raoult. De esta manera se puede hacer estimar la presión de vapor generada por la mezcla del agua y el limoneno a partir de los volúmenes recolectados a la salida de la cámara de condensación.

Para construir las curvas de presión de vapor se puede utilizar la ecuación de Clausius–Clapeyron, sin embargo, la ecuación puede fallar a alta presión y cerca del punto crítico. La Ecuación de Antoine es una opción viable, ya que es simple y describe la relación entre la presión de vapor y la temperatura, al relacionar tres parámetros de ajuste a presiones de vapor experimentales medidas en un intervalo de temperatura restringida. La Ecuación de Antoine se puede expresar como:

$$\log P = A - \frac{B}{T+c} \quad \text{o} \quad \ln = A - \frac{B}{T-c}$$

Donde  $P$  es la presión,  $T$  es la temperatura y  $A$ ,  $B$  y  $C$  son las constantes de Antoine.

Para la construcción de las curvas de equilibrio líquido-vapor del limoneno y del agua, se tomaron los coeficientes de Antoine presentados en la Tabla 3.2. Se calculó la presión de vapor en función de la temperatura, de tal forma que las temperaturas de operación estuvieran representadas en la gráfica, así como la temperatura y presión críticas de cada uno de los componentes (Figura 3.4).

Tabla 3.2 Parámetros de la Ecuación de Antoine de limoneno y agua.

Ecuación de Antoine						Intervalo de temperatura	$P_c$	$T_c$	Referencia
	T	P	A	B	C	K	bar	K	
Agua	K	Pa	10.2653	1810.94	-28.665	372.15 - 746.15	21821	647.35	Dortmund Data Bank
Limoneno	K	kPa	14.12371	3647.925	66.875	320 - 450.7	2587	636.36	Rodríguez <i>et al.</i> , 1995 Gutiérrez <i>et al.</i> , 2013

Es importante contar con estas ecuaciones para poder predecir la presión del equipo en función de la temperatura de operación seleccionada. Las curvas de saturación también sirven para poder elegir las condiciones de operación promoviendo el cambio de fase del agua atrapada en la matriz vegetal sin llegar a la temperatura de ebullición del limoneno y evitar así la degradación del aceite esencial.

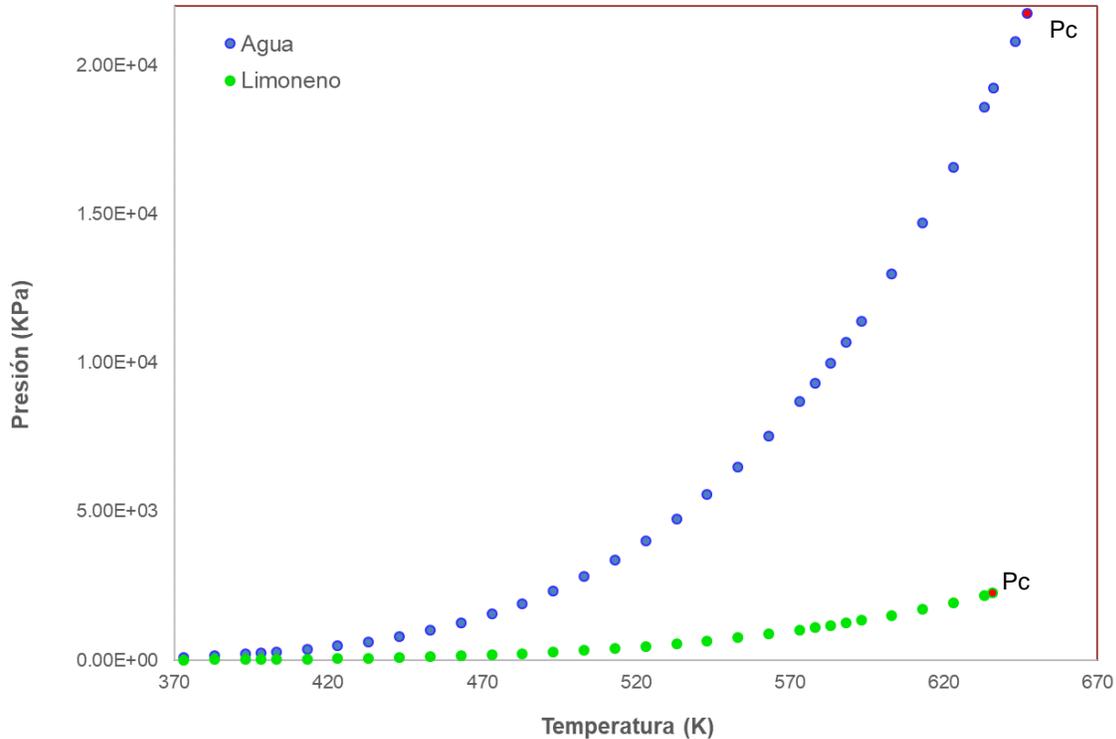


Figura 3.4 Curvas de equilibrio del agua y del limoneno.

El proceso de extracción puede verse como la combinación de dos factores: la temperatura, que es necesaria para que se forme un tapón semi-seco estable, y la presión mecánica generada para que se lleve a cabo la extracción del aceite de los alveolos en la cáscara.

La figura 3.5 se realizó utilizando la ecuación de Antoine y la ecuación de Clausius-Clapeyron, la cual se pudo ocupar porque que las presiones registradas por el extrusor son pequeñas y no se acerca a condiciones críticas para agua y limoneno. Se puede observar que las condiciones de operación (línea negra con puntos), están más cerca de la recta para agua; esto se debe a que es el agua la que cambia de fase y no el limoneno, el cual está presente en forma de microgotas, ya que las temperaturas de operación del extrusor son inferiores al punto de ebullición del limoneno, 176°C (449.15 K) para una presión de 1 atm.

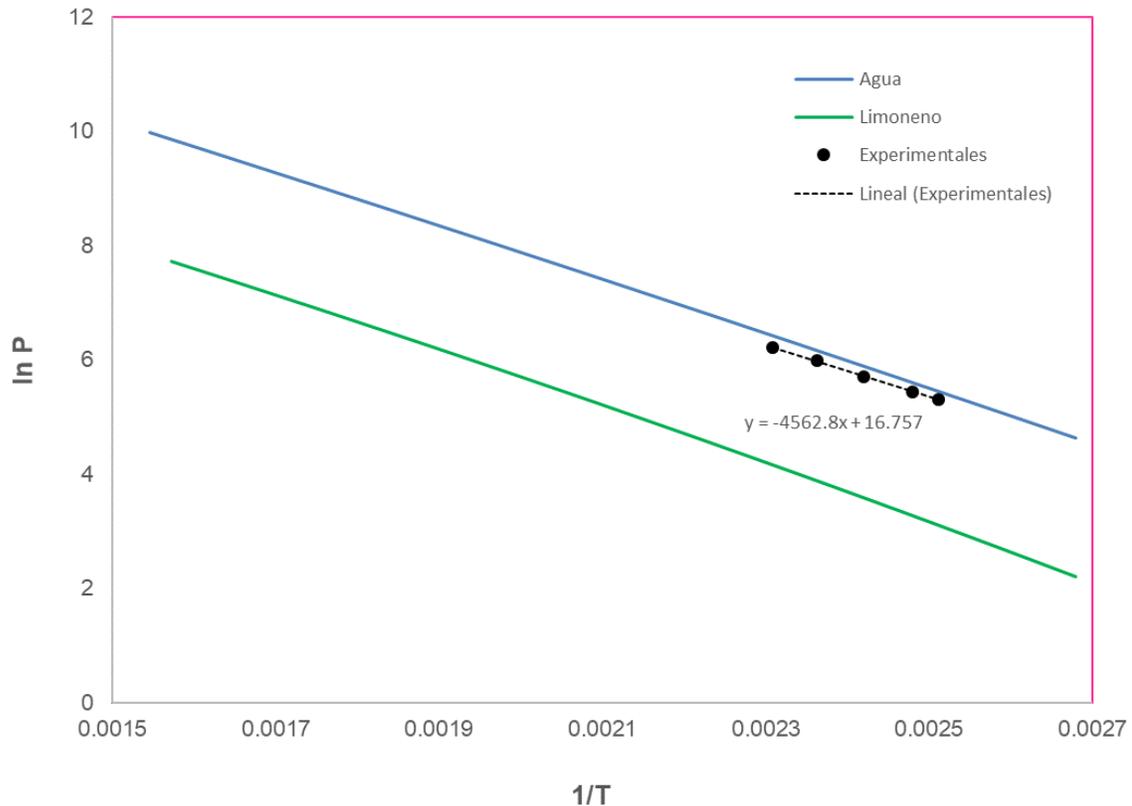


Figura 3.5 Gráfica de la ecuación de Clausius-Clapeyron para las condiciones de extracción (línea negra con puntos).

El sistema de operación del extrusor está ubicado en el intermedio. Sin embargo, las condiciones de proceso están más cercanas a la línea del agua, por lo que las condiciones de equilibrio están en función del agua, y es quien dicta el comportamiento del sistema. La pendiente que se forma con los puntos de las diferentes condiciones de proceso es la energía de vaporización que se necesita para cambiar de fase el agua atrapada en la matriz vegetal. La presión de vapor del limoneno disminuye la presión de vapor del agua en el extrusor, lo que promueve el cambio de fase.

La cinética del proceso de extracción por arrastre de vapor dependerá de:

- 1) La hidrodinámica del flujo de vapor.
- 2) La geometría, porosidad y localización de la matriz vegetal donde se ubica el aceite.

En el proceso de extracción por extrusión en equipo de doble tornillo se pueden considerar tres puntos:

- 1) El efecto mecánico de compresión (axial y radial) de la matriz sólida permite la liberación del agua atrapada y su consecuente cambio de fase por efecto del calentamiento de los módulos.
- 2) La formación del tapón dinámico por el efecto de retención o desaceleración de la velocidad de flujo por los contrafiletes, permitiendo que la fuerza mecánica venza el trabajo de superficie (tensión superficial) liberando el aceite de la cavidad oleosa.
- 3) El arrastre de las microgotas de aceite por el vapor de agua generado en la zona de los contrafiletes del tornillo.

Se obtuvo la presión en el tapón formado dentro del extrusor en condición de estabilidad o régimen permanente, colocando el transductor de presión en el módulo 5 y se observó que la presión dentro del sistema se mantiene entre dos y cinco bares a las condiciones de operación seleccionadas (Tabla 3.3).

A partir de los volúmenes de agua y aceite obtenidos en la extracción se estimó la presión teórica a empleando las presiones de vapor del agua y del aceite esencial mediante la Ley de Raoult:

$$P_1 = x_1 P_1^0$$

Donde  $P_1$  es la presión parcial del componente 1,  $x_1$  es la fracción molar del componente 1 y  $P_1^0$  es la presión de vapor del disolvente puro.

Y la Ley de las Presiones Parciales de Dalton (despreciando la fase sólida)

$$P_T = P_1 + P_2 + P_3 + \dots + P_n$$

Donde  $P_T$  es la presión total del sistema y  $P_1, P_2, P_3$  y  $P_n$  son las presiones parciales de cada uno de los componentes del sistema.

Se puede considerar que el diferencial entre la presión experimental y la teórica se aportada por el efecto de compresión mecánico en el tapón dinámico.

Esta hipótesis viene de dos experimentos realizados para poder comenzar a elucidar el proceso de extracción en el extrusor de doble tornillo y la naturaleza o el fenómeno del proceso, para lo cual se llevaron a cabo dos experimentos.

Tabla 3.3 Presión del proceso de extracción

Temperatura (°C)	Vel. de rotación (rpm)	Presión experimental, atm (KPa)	Presión teórica, atm (KPa)
140	60	2 (200)	1.97 (197)
140	80	2 (200)	1.97 (197)
150	60	3 – 5 (300 – 500)	3.57 (357)
150	80	4 – 5 (400 – 500)	3.57 (357)
160	60	4 – 5 (400 – 500)	4.72 (472)
160	80	5 (500)	4.72 (472)

El valor entre paréntesis está en KPa

Aporte térmico al proceso de extracción. Se utilizaron segmentos de husillo de paso amplio sin adicionar contrafiletes para que predominara el transporte a la misma temperatura que se lleva a cabo la extracción. El filtro se colocó en el módulo 9 pero no se obtuvo aceite en el filtro, ya que el refinado conlleva el aceite a la salida del extrusor.

Aporte mecánico al proceso de extracción. Se formó el tapón en diferentes partes del equipo, colocando los contrafiletes correspondientes para observar el efecto del tiempo de residencia. Este ensayo se condujo a temperatura ambiente (i.e. sin calentamiento). Se produjo un líquido turbio debido al lodo fino que se formó dentro del extrusor, por lo que no se pudo separar el aceite.

El proceso de extracción puede verse como la combinación de dos factores que actúan de manera secuencial; en el primero la temperatura es necesaria para que se forme un tapón semi-seco estable, y el segundo factor corresponde a la presión mecánica que se acumula en la vecindad de los contrafiletes para que se lleve a cabo el arrastre por vapor del aceite.

### 3.6 Consideraciones edafoclimáticas y geográficas.

La producción de toronja en México se puede dividir en tres principales zonas, el Municipio de Martínez de la Torre, en el Estado de Veracruz; el Municipio de Victoria, en el Estado de Tamaulipas; y el Municipio de Múgica, en el Estado de Michoacán. Para este trabajo se eligió trabajar con la toronja de Tamaulipas, porque fue el fruto que más aceite presentó en los experimentos preliminares.

Con la tecnología de extracción desarrollada, se construyó la Figura 3.6 que incluye los meses involucrados en el ciclo agrícola y su relación con la productividad de aceite, el cual va aumentando hasta alcanzar un máximo en el mes de enero. Dicha variabilidad se puede correlacionar con condiciones ambientales. Las temperaturas más bajas del año se reportan en enero y la temperatura ambiental influye significativamente en la estabilidad del aceite esencial.

La autooxidación y la descomposición de los hidroperóxidos presentes en los aceites esenciales se eleva con el aumento de la temperatura, debido a que es probable que el calor contribuya a la formación inicial de radicales libres (Choe y Min, 2006). Los terpenoides, especialmente monoterpenos y aldehídos, se conocen comúnmente por ser termolábiles y susceptibles a procesos de modificación a temperaturas elevadas. Se han reportado reacciones de degradación terpénica por calentamiento para compuestos puros y aceites esenciales a temperaturas altas (Tomaino *et al.*, 2005).

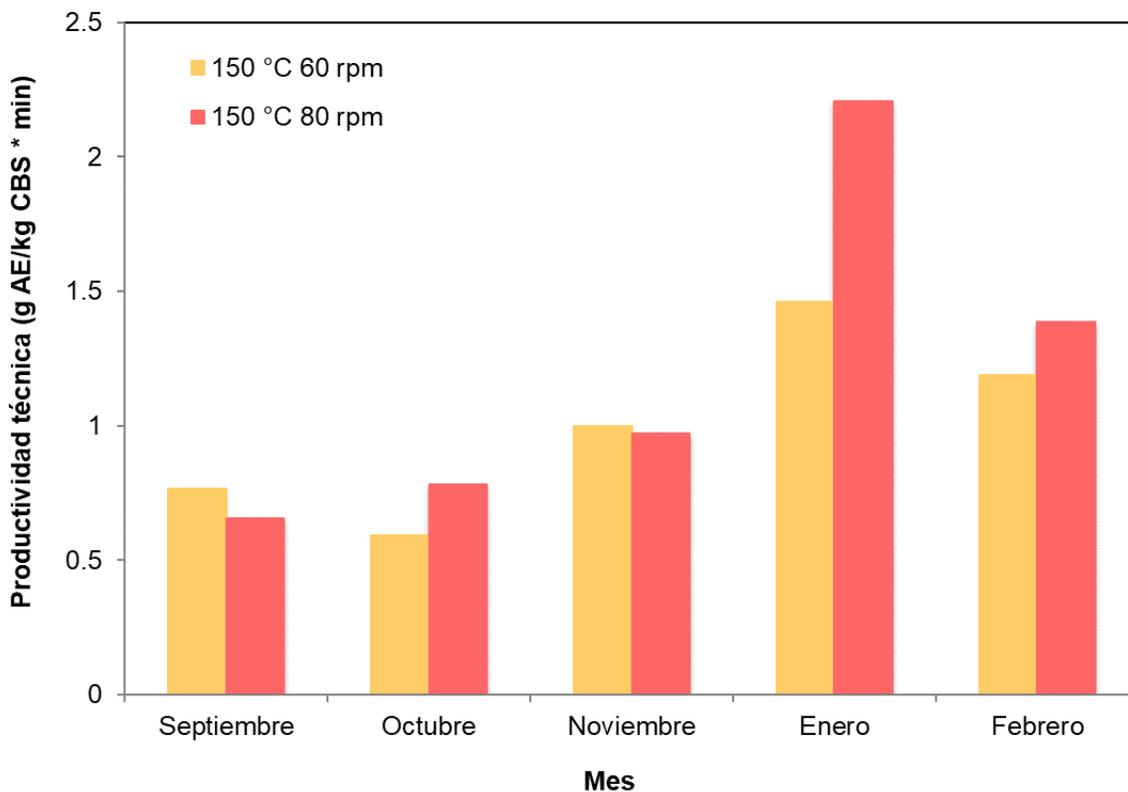


Figura 3.6 Productividad técnica de aceite esencial de toronja en el ciclo agrícola septiembre-febrero 2016-2017.

### 3.7 Rendimiento másico (Productividad técnica)

A partir de los resultados preliminares, las cáscaras de toronja con un mínimo de manejo postcosecha se cortaron en trozos pequeños de aproximadamente 1 cm de lado para cada uno de los experimentos (Figura 3.7). Se midió la humedad de la cáscara en una termobalanza, dando una humedad aproximada de 70%.

Para los experimentos de extracción en el extrusor se alimentaron manualmente 500 g de los trozos de cáscara en cada corrida, determinando el rendimiento de aceite obtenido a la salida del filtro y una vez condensando los vapores. Los resultados, expresados como productividad técnica, para cada condición se presentan en la tabla 3.4.

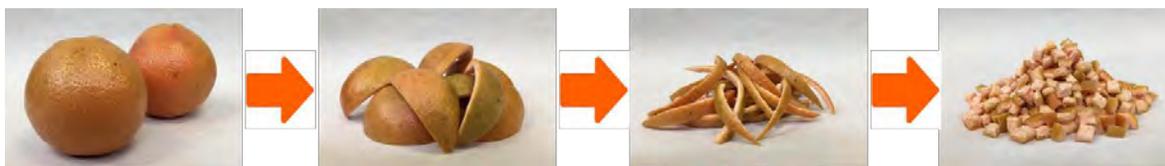


Figura 3.7 Proceso de pretratamiento de la cáscara de toronja para la extracción.

Para fines de comparación se presentan los resultados calculados a partir de reportes de 3 publicaciones previas, todos para el caso de cáscara de toronja.

Tabla 3.4 Productividad técnica (g AE/kg de CBS . min).

<b>Reportado</b>			
			$P_T$
Hidrodestilación (Kamal <i>et al.</i> , 2011)			0.016
Hidrodestilación (Uysal <i>et al.</i> , 2011)			0.023
Hidrodestilación (Okonowo <i>et al.</i> , 2013)			0.041
<b>Experimental</b>			
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	$\bar{x}$	$s$
140	60	1.4061	0.2331
140	80	1.6667	0.3781
150	60	1.4590	0.4762
150	80	2.2078	0.0987
160	60	1.7799	0.2186
160	80	1.7255	0.2392

AE: aceite esencial; CBS: cáscara base seca;  $P_T$ : productividad técnica;  $\bar{x}$ : media de la productividad técnica;  $s$ : desviación estándar.

La tabla 3.4 incluye los resultados reportados por tres autores: Kamal *et al.*, (2011) utilizó la cáscara fresca de toronja la cual fue retirada con ayuda de un bisturí para cuidar las glándulas sebáceas. La extracción de los aceites esenciales fue por hidrodestilación empleando un equipo Clevenger por 3 h, con una productividad

0.016 g de AE/kg de CBS·min. Uysal *et al.*, (2011) reportó que se pesaron 250 g de cáscara fresca de toronja y se mezclaron con 2 L de agua, llevándose a cabo la hidrodestilación empleando un equipo Clevenger para la extracción de los aceites esenciales por 3 h. El valor de productividad fue de 0.023 g de AE/kg de CBS·min. Por otro lado, Okonowo *et al.*, (2013), pesaron 300 g de cáscara de toronja y se mezclaron con 1 L de agua, el material cítrico se molió para obtener un puré y promover la extracción del aceite esencial. Para la extracción se utilizó un aparato Clevenger unido a un matraz de balón de 2 L; el tiempo de extracción fue de 3 h. La productividad obtenida fue de 0.041 g de AE/kg de CBS·min.

Tomando como referencia el valor más alto obtenido del diseño experimental propuesto de 2.2 g de AE/kg de CBS·min, en los tres casos se superó en dos órdenes de magnitud al reportado por los autores referenciados, por lo que la tecnología de extracción propuesta en este trabajo ofrece ventajas significativas respecto a los reportados.

Respecto al comparativo entre las distintas condiciones de extracción, se observó que a mayor temperatura la extracción mejora para la operación a 60 rpm (Figura 3.8). Sin embargo, los rendimientos para 80 rpm presentaron una dispersión significativa (Figura 3.9) que no permite llegar a una generalización directa de causa-efecto.

A partir de los resultados presentados en las Figuras 3.8 y 3.9, se refrendó la hipótesis basada en que el aporte térmico en el extrusor da pie al aporte mecánico generado por un tapón interno de material. Dada la naturaleza química de la cáscara de toronja se planteó la posibilidad que la pectina presente sufriera una gelificación y posterior solidificación a causa del tratamiento térmico precisamente al retrasar su paso en el punto vecinal de los contrafiletes. Como se ha mencionado, dicho tapón, de consistencia compacta, incrementó la presión en el material que transita por el extrusor, lo que favoreció la extracción del aceite esencial de toronja. Dicha consistencia fue confirmada al limpiar el equipo y observar la presencia de material endurecido y adherido a la flecha del extrusor, como si fuera un pegamento, y precisamente en los segmentos tipo contrafilete, según se puede observar en la Figura 3.10.

Se llevaron a cabo las siguientes pruebas al tapón que se forma dentro del extrusor para corroborar la hipótesis mencionada en el apartado 3.5. Se repitió la extracción de aceite esencial de acuerdo con el diseño experimental establecido y mencionado en el apartado 3.2, considerando una velocidad radial del tornillo de 80 rpm. Para ampliar el intervalo se añadieron dos experimentos adicionales a una temperatura menor (130 °C) y otra mayor (170 °C).

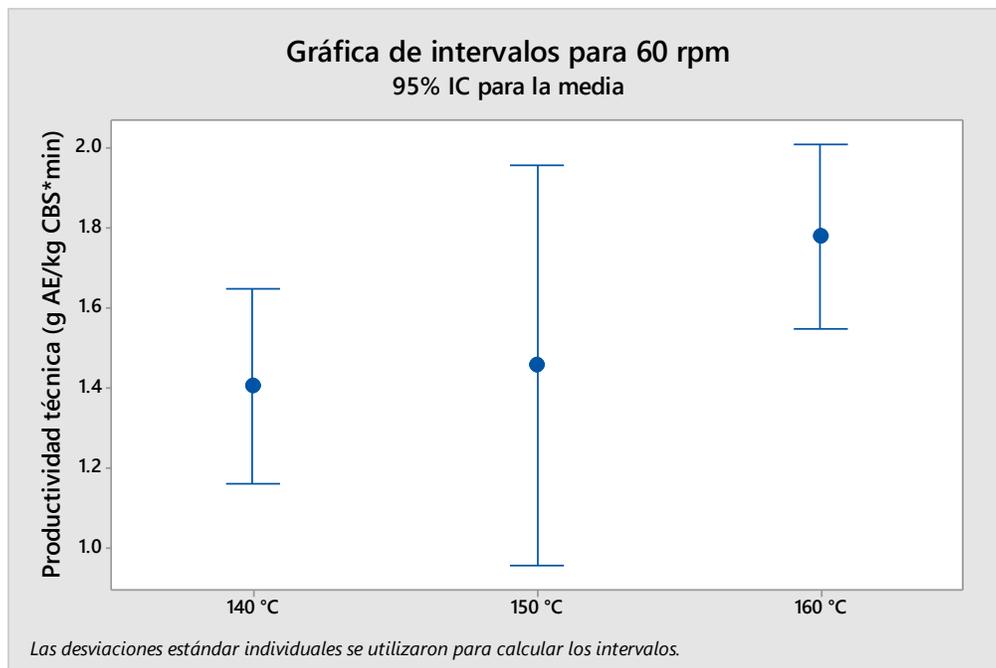


Figura 3.8 Gráfica de intervalos de confianza para los rendimientos de aceite esencial obtenidos a 60 rpm, para siete réplicas.

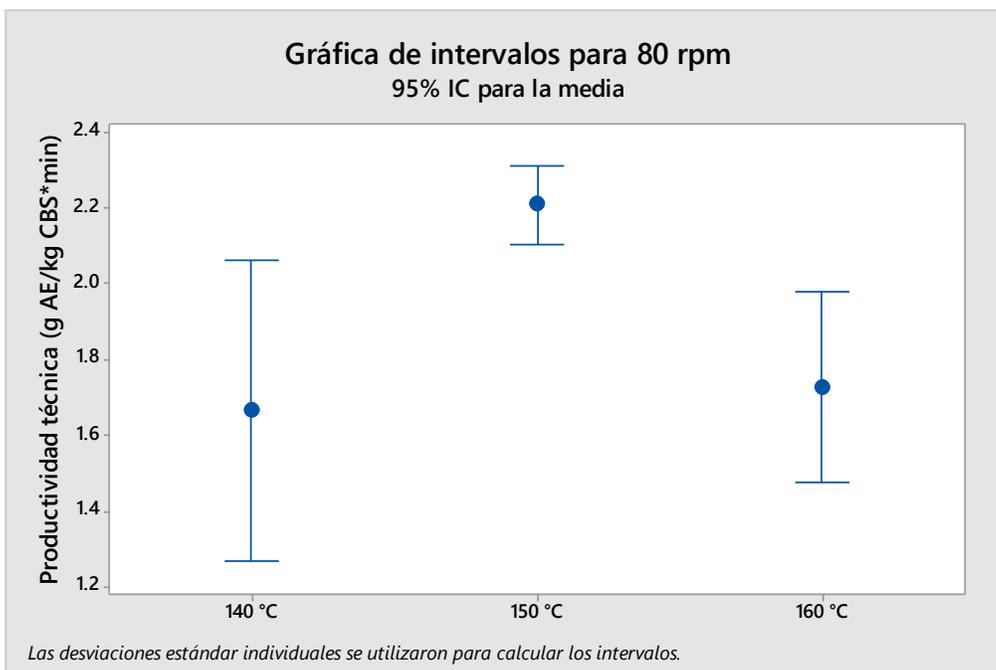


Figura 3.9 Gráfica de intervalos de confianza para los rendimientos de aceite esencial obtenidos a 80 rpm, para siete réplicas.

### 3.8 Caracterización fisicoquímica del material que conforma el tapón

#### 3.8.1 Índice de dureza

Se realizaron tres mediciones de dureza (ver sección 2.4.1 en Materiales y Métodos) de diferentes partes del tapón, tomando las secciones más gruesas. Los resultados se presentan en la Figura 3.11 a las diferentes temperaturas. El perfil observado presenta un comportamiento similar a la gráfica de rendimiento de extracción de aceite con un valor máximo a 150 °C. Adicionalmente, se observó que a temperaturas inferiores a 150 °C resultan en la formación de un tapón húmedo, fluido e inconsistente, por lo que el rendimiento de extracción disminuyó. Por otra parte, a temperaturas mayores a 150 °C se generó un tapón muy frágil, poco consistente y de fácil desintegración al aplicar una fuerza mecánica, y por ende el rendimiento se vio también disminuido.

Se concluye que la temperatura influye en la cantidad de agua presente en el tapón interno y por ende en la consistencia y uniformidad. A 150 °C se presentan las condiciones favorables para la formación de un tapón dinámico/gelificado interno, lo suficientemente homogéneo y consistente para favorecer una mayor extracción de aceite esencial de toronja a 80 rpm.



Figura 3.10 Tapón formado dentro del extrusor.

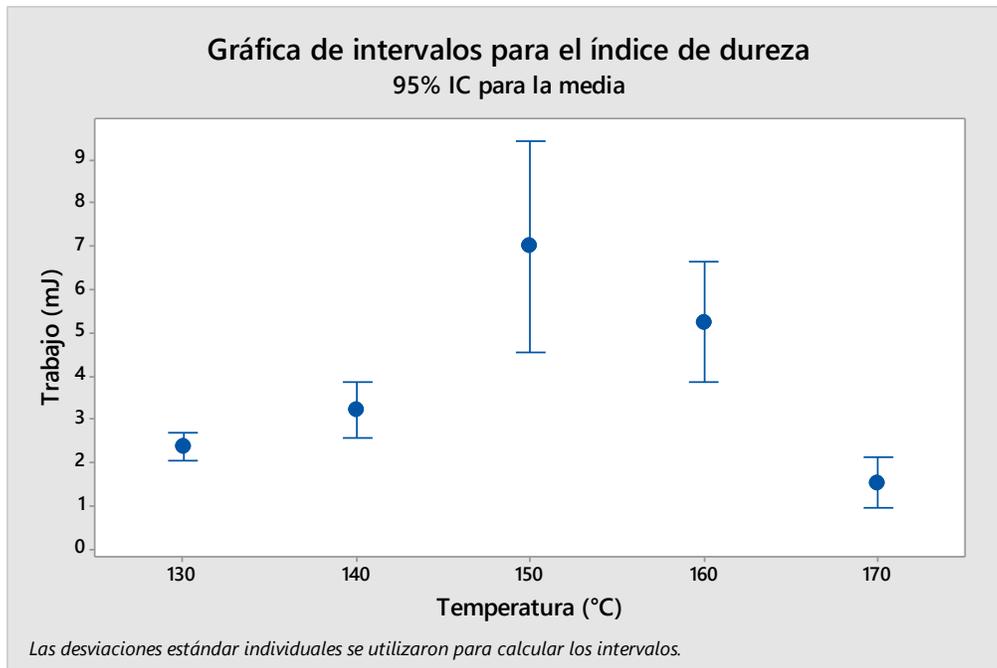


Figura 3.11 Gráfica de intervalos de confianza para el índice de dureza del material presente en el tapón, por triplicado.

### 3.8.2. Contenido de pectina

A partir del tapón interno recuperado, se aisló y cuantificó la pectina presente para valorar si este polisacárido presente de manera nativa en el albedo de la cáscara de toronja influye en la compactación y uniformidad del tapón interno y por ende en el rendimiento de aceite esencial. La Figura 3.12 muestra el contenido de pectina en función de la temperatura y un evidente máximo, nuevamente a 150 °C. Dado que la pectina es el polisacárido de mayor proporción en la cáscara de toronja, con 55.6 g/100 g BS (Ting y Deszyck, 1960), es de esperar que se gelifique a la temperatura de operación del extrusor, compactando el tapón interno en los componentes contrafiletes del extrusor. El por qué se observa un máximo alrededor de los 150 °C podría explicarse con reportes que indican que a temperaturas cercanas a los 210 °C se presenta hidrólisis de pectina (Aburto *et al.*, 2015). Es probable que a 170 °C se presente depolimerización de la pectina, disminuyendo el contenido de este polisacárido, como se observa en la Figura 3.12.

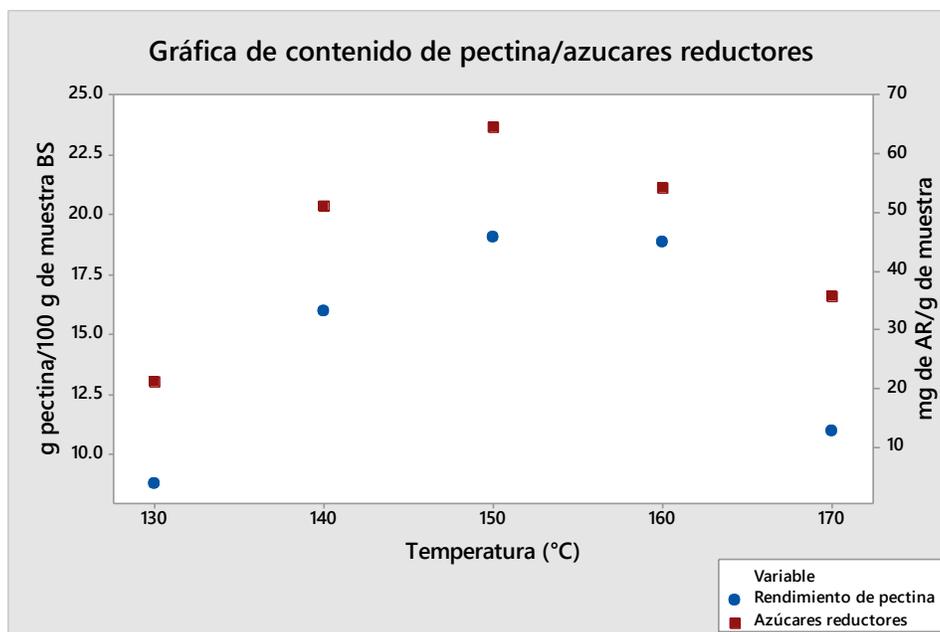


Figura 3.12 Gráfica de contenido de pectina y azúcares reductores (ácido galacturónico) para el material del tapón.

### 3.8.3. Azúcares reductores

Aunque la pérdida de viscosidad se usa a menudo para explicar la depolimerización de los polisacáridos, es difícil distinguir si los cambios en la viscosidad resultan de la ruptura de agregados o de la hidrólisis del enlace covalente en las cadenas poliméricas. Este problema puede resolverse midiendo la cantidad de azúcares reductores usando el método del Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Chen *et al.*, 2012).

La Figura 3.12 describe la concentración de azúcares reductores (eje secundario) en el tapón. Los productos de la hidrólisis enzimática de la pectina son: ácido péctico, ácido galacturónico y azúcares libres (Furia, 1973) y poseen un extremo reductor para reaccionar con el reactivo DNS. Las temperaturas propuestas en el diseño experimental de este trabajo son menores a las temperaturas de depolimerización, manifestando una baja presencia de azúcares reductores, ácidos galacturónico y péctico (un valor máximo ~65 mg/ gramo de tapón base seca para una temperatura de 150°C), lo que refleja una hidrólisis mínima de la pectina a estas condiciones.

### 3.8.4. Viscosidad

La capacidad gelificante de la pectina depende de su solubilidad y viscosidad, que son una medida de su peso molecular (Rao, 1993). La viscosidad depende no solo de la concentración del polímero sino también de la masa molar, la conformación,

el pH y la fuerza iónica (Thibault y Rombouts, 1986). Cuanto mayor es la masa molar, mayor es su viscosidad y, por lo tanto, mayor es el grado de gelificación (Brandrup e Immergut, 1975; Rao, 1993). La molécula de pectina puede contener desde unos pocos cientos de unidades hasta aproximadamente mil unidades, que corresponden a pesos moleculares de hasta 150,000, dependiendo de las materias primas utilizadas (Gregory, 1986).

Se eligió cuantificar la viscosidad por su relación con la concentración de la pectina, suponiendo que la concentración afecta la uniformidad y compactación del tapón interno. Se ha reportado que 100 g de cáscara de toronja, una vez extraído el aceite, contienen 82.97 g de carbohidratos, de los cuales la pectina (52.4 g/100 g BS) es el constituyente mayoritario, además de otros polisacáridos como hemicelulosa (11.7 g/100 g BS), celulosa (30.8 g/100 g BS) y lignina (5.1 g/100 g BS) (Ting y Deszyck, 1960). Se midió la viscosidad de la solución/suspensión que genera el tapón extraído en función de ocho diferentes velocidades de giro, mostrando una diferencia significativa para los valores 0.3 y 0.6 rpm, para los tapones generados a 150°C. A valores mayores de velocidad de giro de la aguja del viscosímetro, los valores de viscosidad se mantienen iguales independientemente de la temperatura de extracción, por tal motivo solo se muestran aquellos resultados con una diferencia notoria.

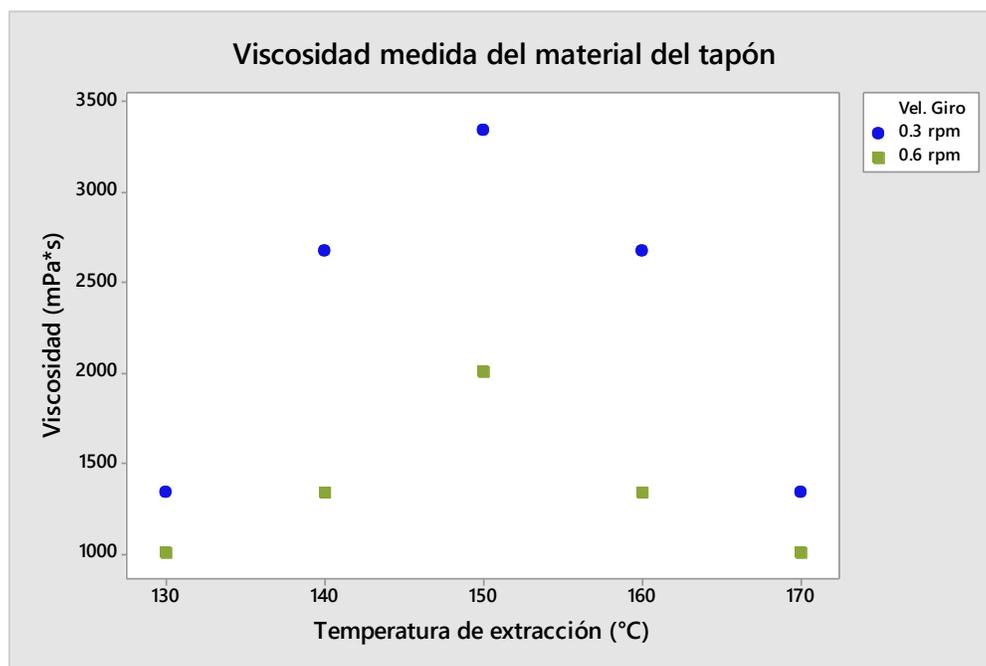


Figura 3.13 Viscosidad para el material obtenido del tapón.

La Figura 3.13 muestra como la viscosidad aumenta hasta alcanzar un máximo a 150 °C, perfil muy similar al observado para el contenido de pectina (Figura 3.12). Esto a la vez presenta una tendencia análoga (aunque con mucha dispersión) para el rendimiento de extracción de aceite esencial. Lo anterior valida la hipótesis de la

formación del tapón dinámico a 150°C, a partir de la pectina y su efecto en la extracción de aceite.

### 3.9 Requerimiento energético (Productividad económica)

Con el objeto de valorar en qué medida el proceso propuesto representaba una mejora en el consumo energético en comparación con procesos tradicionales, y con ello poder perfilar los beneficios ecológicos y la viabilidad comercial, se determinó la eficiencia energética, expresada como "productividad económica" de calentamiento (watts por hora por gramo de aceite esencial). Los resultados se presentan en la Tabla 3.5 y se compara con los datos reportados para otras tecnologías y otros cítricos, ya que no se encontraron reportes del tipo para el caso del aceite esencial de toronja.

La eficiencia energética obtenida ofrece grandes ventajas en comparación con los reportados en la literatura para otros cítricos, pues son superiores en más de tres órdenes de magnitud. Los requerimientos energéticos para la tecnología de extracción son menores, haciéndola atractiva desde un punto de vista económico (Tabla 3.5 y Figura 3.14).

Tabla 3.5 Productividad económica (W.h/g de AE)

<b>Reportado</b>			
			$P_E$
Limón: Extracción por Arrastre con Vapor (Bousbia <i>et al.</i> , 2009)			75
Naranja: Extracción por Arrastre con Vapor (Rezzoug y Louka, 2009)			130
<b>Experimental</b>			
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	$\bar{x}$	s
140	60	0.9597	0.1776
140	80	0.9549	0.2107
150	60	1.0870	0.2815
150	80	0.7163	0.0328
160	60	0.8435	0.1033
160	80	0.9198	0.1383

$P_E$ : Productividad económica

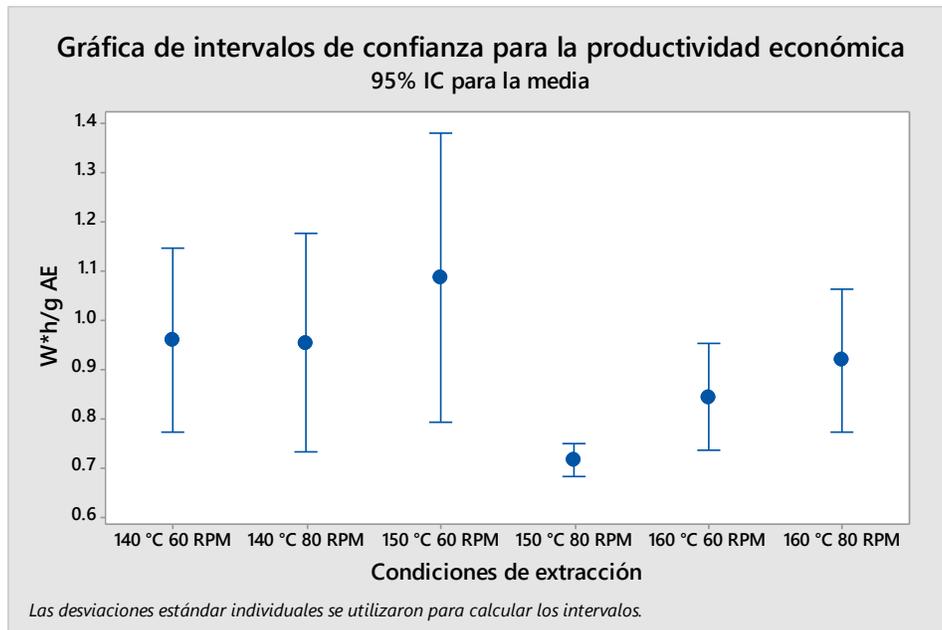


Figura 3.14 Gráfica de intervalos de confianza para la productividad económica, para siete repeticiones.

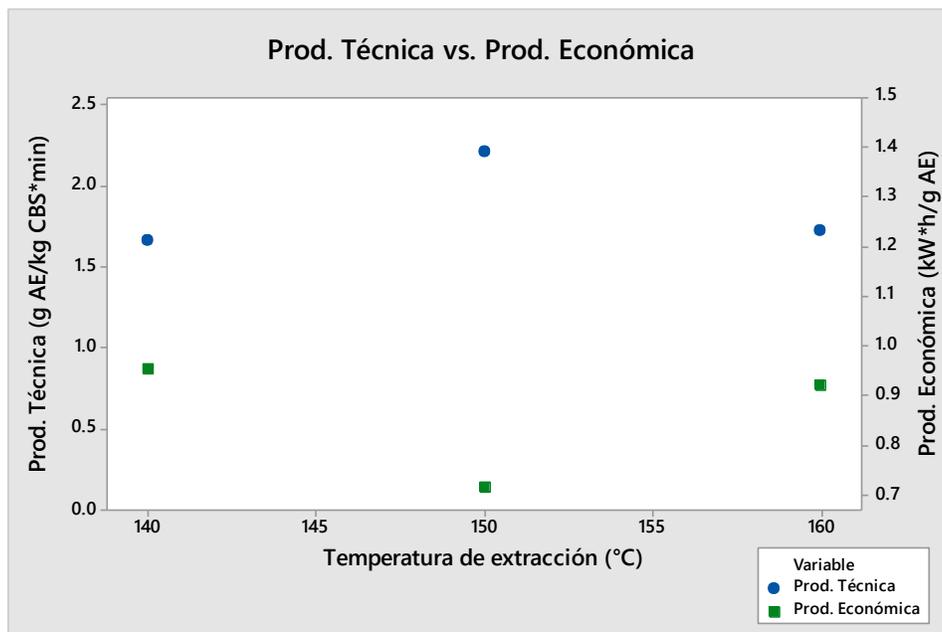


Figura 3.15 Productividad técnica versus productividad económica para la extracción de aceite esencial de toronja.

La Figura 3.15 muestra que a 150°C se obtienen los mejores valores tanto para la productividad técnica como para el consumo energético o productividad económica. Es pertinente precisar que estos datos no incluyen los W·h requeridos por el motor del tornillo y para el sistema de enfriamiento de agua para condensación del vapor, ya que por el momento no se cuenta con un equipo para tales mediciones. Sin

embargo, estos gastos energéticos adicionales son bajos en comparación con la energía que se requiere para calentar los módulos del reactor, y alcanzar las temperaturas de operación utilizadas.

### 3.10 Propiedades sensoriales

La norma ISO 3053:2004 “Aceite de toronja (*Citrus paradisi* Macfad.)”, (Anexo 1), obtenido por expresión, dicta las pruebas que contemplan esta norma internacional. Se aplicaron las pruebas correspondientes a los aceites esenciales obtenidos con las diferentes condiciones de extracción y tomando como referencia una muestra de aceite esencial de toronja grado analítico de la marca Sigma-Aldrich, el cuál es extraído por prensado en frío (según consta en la hoja de seguridad del reactivo). Estos resultados, aunque no son cuantitativos se mencionan tal como se hace en la normatividad ISO (Tablas 3.6, 3.7 y 3.8).

#### 3.10.1 Apariencia

Tabla 3.6 Apariencia.

Reportado en Norma		Líquido claro
Reactivo analítico		Líquido claro
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	Líquido claro
140	80	Líquido claro
150	60	Líquido claro
150	80	Líquido claro
160	60	Líquido claro
160	80	Líquido claro

#### 3.10.2 Color

Tabla 3.7 Color.

Reportado en Norma		Amarillo a naranja
Reactivo analítico		Amarillo - naranja
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	Ligeramente amarillo
140	80	Ligeramente amarillo
150	60	Ligeramente amarillo
150	80	Ligeramente amarillo
160	60	Ligeramente amarillo
160	80	Ligeramente amarillo

### 3.10.3 Olor

Tabla 3.8 Olor.

Reportado en Norma		Olor a cítrico fresco, característico de la cáscara de pomelo.
Reactivo analítico		Cítrico fresco
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	Cítrico fresco
140	80	Cítrico fresco
150	60	Cítrico fresco
150	80	Cítrico fresco
160	60	Cítrico fresco
160	80	Cítrico fresco

La Figura 3.16 muestra la apariencia y el color que muestran los aceites esenciales obtenidos por extrusión y el reactivo analítico. Se observa que todas las muestras y el estándar son transparentes. Sin embargo, se aprecia claramente una coloración muy disminuida y prácticamente incolora para las muestras, respecto al color del reactivo analítico. Esta propiedad puede incrementar de manera importante su utilidad en diferentes áreas de aplicación, sobre todo la alimentaria.

### 3.11 Caracterización fisicoquímica

Para el control analítico de aceites esenciales de cítricos se utilizan entre otras las siguientes determinaciones: densidad relativa, índice de refracción, rotación óptica, residuo de evaporación e índice de carbonilo. La densidad relativa indica la fracción no volátil que se encuentra en el aceite esencial y que suele estar directamente relacionada con el método utilizado en la extracción. El índice de refracción disminuye cuando aumenta la temperatura y es directamente proporcional a la densidad.

La rotación óptica en los aceites esenciales de cítricos se produce por la relación de las proporciones entre sus dos componentes mayoritarios (limoneno de naturaleza dextrógira y  $\beta$ -pineno de naturaleza levógira). Se ha observado que las rotaciones ópticas de los aceites esenciales procedentes de zonas serranas son más altos que los producidos en las zonas costeras (Stanley *et al.*, 1961); Por otra parte, se han encontrado diferencia de valores de rotación óptica en frutos de madurez similar y de similares propiedades fisicoquímicas, pero de distinto huso horario (Lodge *et al.*, 1977).

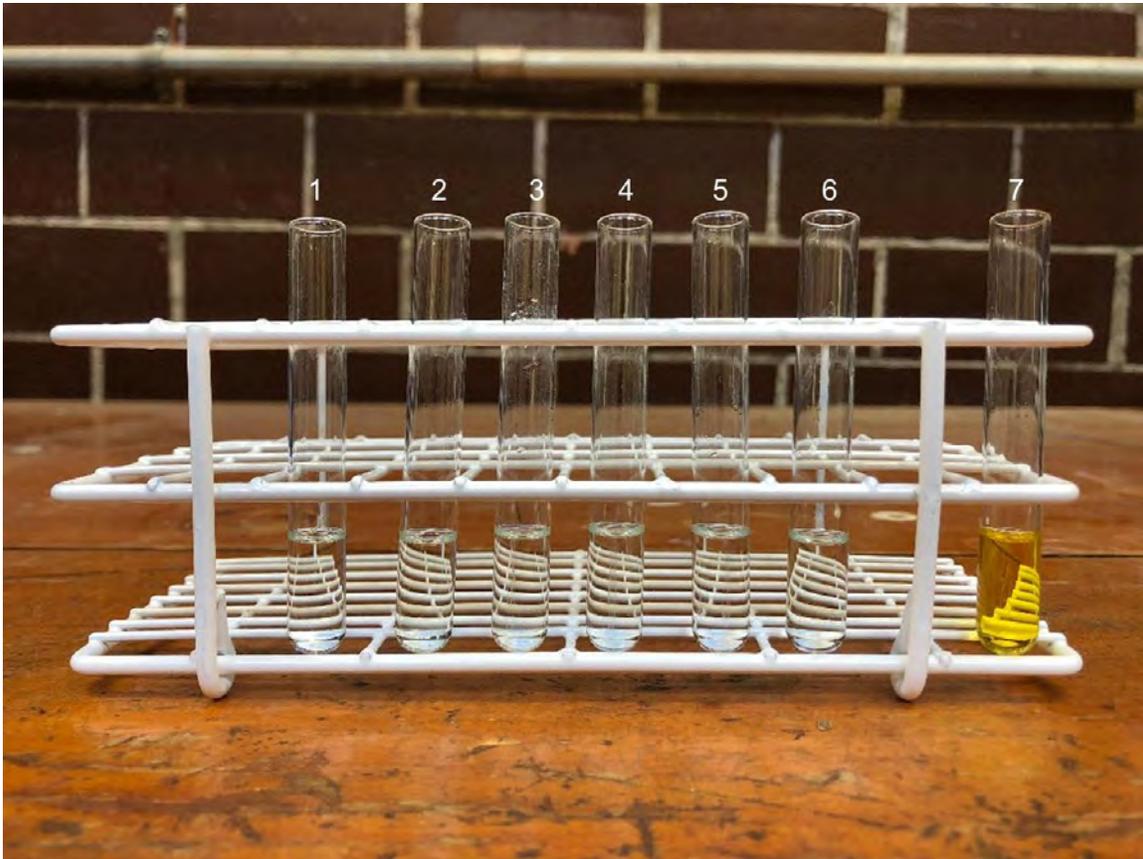


Figura 3.16 Apariencia y color de los aceites esenciales obtenidos por extrusión y el aceite grado analítico de Sigma-Aldrich; (1) 140 °C, 60 rpm; (2) 140 °C, 80 rpm; (3) 150 °C, 60 rpm; (4) 150 °C, 80 rpm; (5) 160 °C, 60 rpm; (6) 160 °C, 80 rpm; (7) Reactivo analítico.

El Codex Alimentarius determina que, para el aceite de toronja, el poder rotatorio oscila entre  $+91^{\circ}$  y  $+96^{\circ}$ , valores que también coinciden con la normatividad estándar internacional. Sin embargo, los valores de rotación óptica a lo largo de un ciclo agrícola pueden variar, y usualmente entre noviembre y diciembre son más elevados que a finales de mayo (Calvarano *et al.* 1979)

La determinación del índice de carbonilo permite conocer el contenido en aldehídos expresados como decanal para el caso del aceite esencial de toronja. Se ha reportado la variación en el contenido de aldehídos del aceite esencial de manera inversamente proporcional con la cantidad de agua utilizada en el proceso de extracción (Kesterson *et al.*, 1958).

### 3.11.1 Densidad relativa a 20 °C

Tabla 3.9 Densidad relativa calculada a partir de la norma ISO 279.

Norma ISO 3053		0.8520 – 0.8600
Reactivo analítico		0.8585
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	0.8548
140	80	0.8569
150	60	0.8540
150	80	0.8536
160	60	0.8521
160	80	0.8598

La densidad relativa indica la fracción no volátil en el aceite esencial y que suele estar directamente relacionada con el método utilizado en la extracción. La densidad que presenta el aceite esencial obtenido por extrusión entra dentro de la norma (Tabla 3.9). Esto puede deberse a que el proceso de extracción no es tan invasivo con los compuestos lipídicos del aceite.

### 3.11.2 Índice de refracción a 20 °C

Valores de densidad inferiores a 0.9 mg/mL e índices de refracción cercanos a 1.47 indican un alto contenido de terpenos (Kesterson y Macduff, 1948). En este caso, aunque los valores salen de la norma si se quiere ser muy riguroso y tomar hasta los valores centésimos, es muy cercano al reportado por la norma ISO (Tabla 3.10).

Tabla 3.10 Índice de refracción calculado a partir de la norma ISO 280.

Norma ISO 3053		1.4740 – 1.4790
Reactivo analítico		1.4746
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	1.4719
140	80	1.4720
150	60	1.4720
150	80	1.4720
160	60	1.4721
160	80	1.4720

### 3.11.3 Rotación óptica a 20 °C

Tabla 3.11 Rotación óptica calculada a partir de la norma ISO 3053.

Norma ISO 3053		+91° - +96°
Reactivo analítico		+98°
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	
140	60	+257°
140	80	+126°
150	60	+105°
150	80	+104°
160	60	+100°
160	80	+130°

La actividad óptica de un aceite esencial representa la relación del contenido de terpenos, principalmente limoneno, que es el compuesto mayoritario, y es de naturaleza dextrógira, y presenta una mayor actividad óptica con respecto a los componentes oxigenados donde la actividad óptica es de naturaleza levógira y cuya actividad es mínima.

Los aceites esenciales de cítricos tienen la propiedad de producir una rotación dextrógira más o menos acentuada del plano de la luz polarizada. Esto se debe a la conformación espacial (estereoisómeros) presentes en los aceites esenciales, como el de toronja.

Los resultados muestran que esta relación es mayor en los aceites extraídos por extrusión; esto se puede deber a la selectividad y extracción a las condiciones suaves que no altera la conformación química del aceite, tal como puede ocurrir en otras tecnologías (Tabla 3.11).

### 3.11.4 Contenido total de aldehídos (expresado como porcentaje de decanal)

Tabla 3.12 Contenido total de aldehídos calculado a partir de la norma ISO 1979.

Norma ISO 3053		0.28 – 2.00
Reactivo analítico		1.83
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	% de decanal
140	60	2.34
140	80	2.48
150	60	2.45
150	80	2.27
160	60	2.43
160	80	2.44

La determinación fisicoquímica del índice de carbonilo, expresado como porcentaje de decanal, ha sido usada durante mucho tiempo como indicativa de la calidad del aceite comercial de toronja, y actualmente se sigue utilizando, ya que al decanal se le atribuye ser el principal responsable del toque más característico del aroma del aceite esencial y, como consecuencia, su contenido es en cierta medida un indicador de su valor comercial. Este valor se corresponde, por exceso (Tabla 3.12), con el porcentaje total de aldehídos que se obtiene por cromatografía de gases (Albaladejo, 2003).

### 3.11.5 Residuo a la evaporación

Este residuo representa la fracción no volátil de aceite esencial que generalmente está constituida por ceras, parafinas, cumarinas, furocumarinas y componentes de elevado peso molecular (Albaladejo, 2003). Los resultados obtenidos (Tabla 3.12) indican que para este proceso de extracción el porcentaje de decanal es mayor que lo indicado en la norma por lo que, aunque se sale del límite permisible, este no deprecia la calidad del aceite. Por el contrario, el aceite obtenido es de una calidad superior, al no presentar compuestos de alto peso molecular, como ceras y parafinas (Tabla 3.13).

Tabla 3.13 Residuo a la evaporación calculado a partir de la norma ISO 4715.

Norma ISO 3053		Máximo 10 %
Reactivo analítico		6.75 %
Temperatura (°C)	Velocidad de giro (rpm)	%
140	60	1.6129
140	80	1.5216
150	60	1.4607
150	80	1.2936
160	60	1.5761
160	80	1.3874

### 3.12 Perfil cromatográfico

El uso de técnicas como HPLC y GC, hace que el estudio de los componentes se realice con base en aquellos que pueden ser identificados con cada técnica. Así, mediante HPLC se lleva a cabo el estudio de los componentes de la fracción no volátil, identificándose cada vez mayor número de éstos, entre los que se encuentran las cumarinas y los flavonoides (limonoides).

Lo mismo ocurre con la cromatografía de gases, que refleja la compleja composición de los componentes más volátiles del aceite esencial donde destacan los

terpenoides, como el limoneno, principal compuesto en los aceites esenciales de cítricos, además de aldehídos, cetonas y alcoholes.

### 3.12.1 Compuestos volátiles (Cromatografía de gases)

Se emplearon estándares para poder identificar los picos y determinar a qué compuesto corresponde cada uno a partir del tiempo de retención. Se inyectaron  $\alpha$ -pineno, mirceno y limoneno, compuestos de mayor porcentaje presentes en el aceite esencial de toronja (Fig. 3.17).

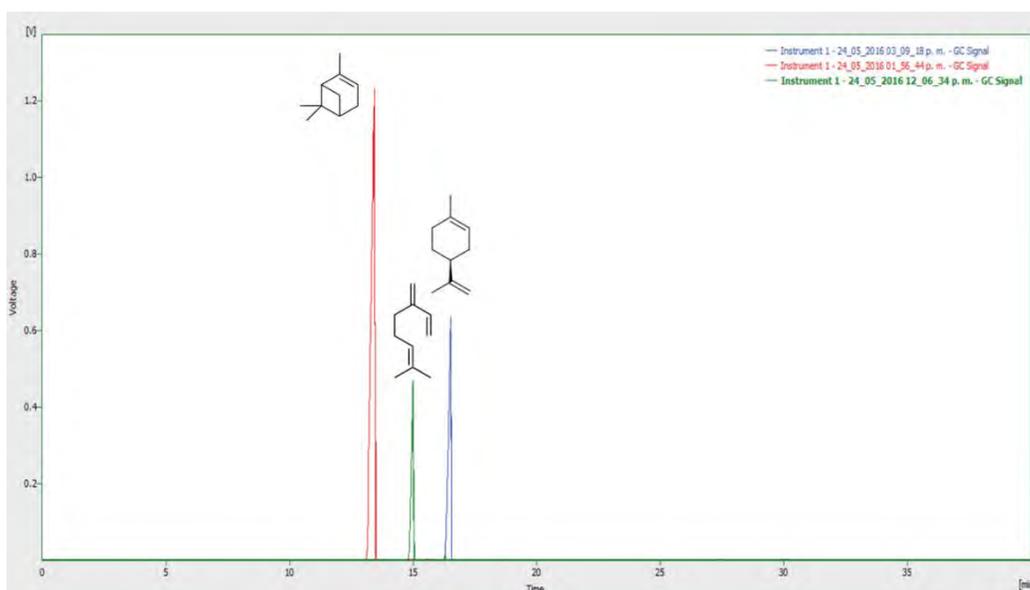


Figura 3.17 Estándares correspondientes al aceite esencial de toronja, limoneno (pico azul),  $\alpha$ -pineno (pico rojo) y mirceno (pico verde).

Para poder cuantificar los compuestos volátiles, se normalizaron las muestras, diluyendo el aceite en cloroformo a una razón de 1:4. Los perfiles cromatográficos obtenidos en el cromatógrafo de gases (Fig. 3.18) a partir de cada una de las muestras analizadas, se compararon con el aceite esencial de toronja grado reactivo analítico y con los valores máximos y mínimos presentes en la norma ISO 3053, (Tabla 3.14).

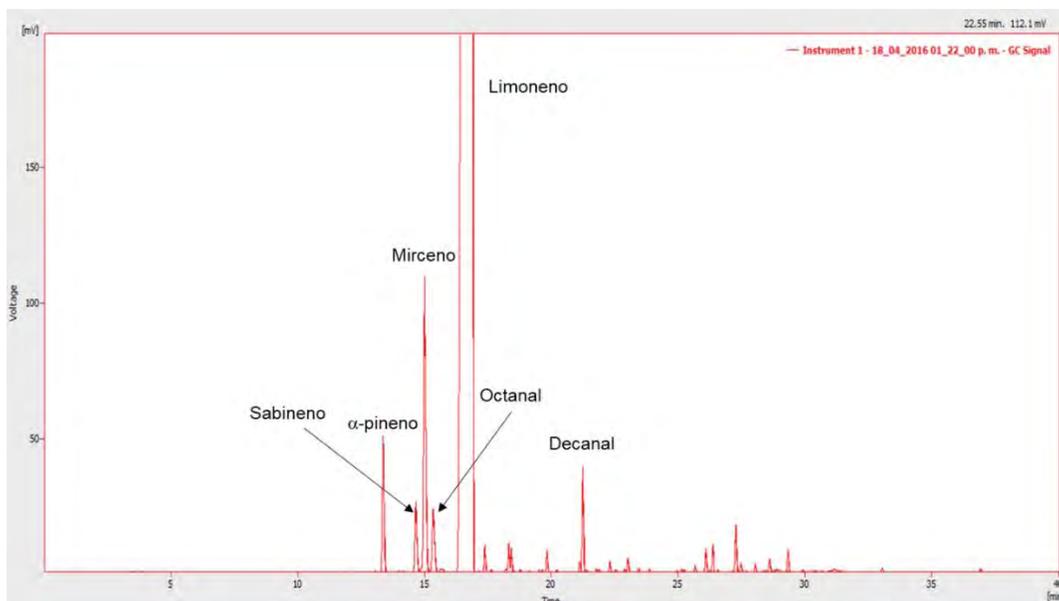


Figura 3.18 Cromatograma de gases típico del aceite esencial de toronja con los principales compuestos.

Tabla 3.14 Perfil cromatográfico del aceite esencial de toronja a partir de la norma ISO 7906.

Compuesto	ISO 3053 (%)	Reactivo Analítico	Temperatura, °C – Velocidad de giro, rpm					
			140 - 60	140 - 80	150 - 60	150 - 80	160 - 60	160 - 80
α-pineno	0.20 – 0.60	0.78	0.72	0.73	0.77	0.76	0.73	0.79
Sabineno	0.10 – 0.60	0.63	0.43	0.43	0.61	0.53	0.60	0.62
β-pineno	0.05 – 0.20	0.21	0.03	0.02	0.04	0.04	0.04	0.05
Mirceno	1.50 – 2.50	2.10	2.23	2.29	2.28	2.24	2.25	2.24
<b>Limoneno</b>	<b>92.0 – 96.0</b>	<b>94.62</b>	<b>94.39</b>	<b>94.44</b>	<b>94.56</b>	<b>94.46</b>	<b>94.49</b>	<b>94.81</b>
n-Octanal	0.20 – 0.80	0.29	0.40	0.40	0.30	0.32	0.33	0.33
n-Nonanal	0.04 – 0.10	0.10	0.08	0.08	0.08	0.09	0.10	0.08
n-Decanal	0.10 – 0.60	0.21	0.30	0.33	0.26	0.29	0.33	0.29
Neral	0.02 – 0.04	0.05	0.04	0.09	0.06	0.08	0.07	0.08
β-cariofileno	0.20 – 0.50	0.15	0.19	0.37	0.12	0.27	0.18	0.16
Nootkatona	0.01 – 0.80	0.15	0.20	0.14	0.15	0.10	0.12	0.04
Otros		0.70	0.59	0.67	0.76	0.90	0.76	0.51

### 3.12.2 Compuestos no volátiles (Cromatografía de líquidos de alta resolución)

Se realizó una prueba en el espectrofómeto de UV-Vis, para evaluar la longitud de onda a la cual se presenta absorbancia en el aceite esencial de toronja, utilizando isooctano como disolvente de acuerdo con el Codex Alimentarius. Se realizó un barrido de longitud de onda de 700 nm a 200 nm, para abarcar el área de luz visible (400 nm – 700 nm) y el área de luz UV (<400 nm).

En los espectros que se obtuvieron no se presentó absorbancia en la región de luz visible, pero si en la región de luz ultravioleta (Figura 3.19). Esto se debe a las cumarinas (360 nm), (Donovalová *et al.*, 2012), psolarenos (300 nm), (Gasparro,

2018) y flavonas (300-380m y 240-280 nm), (Mabry *et al.*, 1970) que contiene el aceite esencial de toronja y que absorben a longitudes de onda menores a 400 nm.

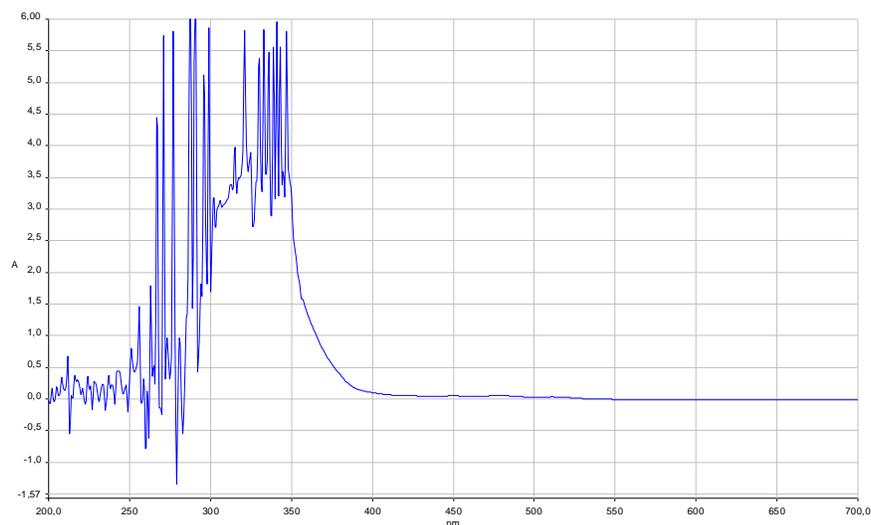


Figura 3.19 Espectro de absorbancia de 700 nm a 200 nm para aceite esencial de toronja obtenido a 140 °C y 80 rpm.

Para las pruebas de Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), se utilizó una columna C18 Simmetry, de la empresa Waters. Se eligió ésta porque es la más referenciada en las bases de información disponibles. Se inyectaron tres estándares disueltos en etanol y en las siguientes proporciones: 1.4 mg de bergamoteno/0.5 mL etanol, 1.7 mg de aurapteno/0.5 mL de etanol y 1 mg de meranzina/100  $\mu$ L de etanol (Fig. 3.20).

El objetivo de esta metodología cromatográfica es meramente cualitativo para identificar los compuestos no volátiles dentro del aceite esencial como (cumarinas y furocumarinas), (Fig. 3.21).

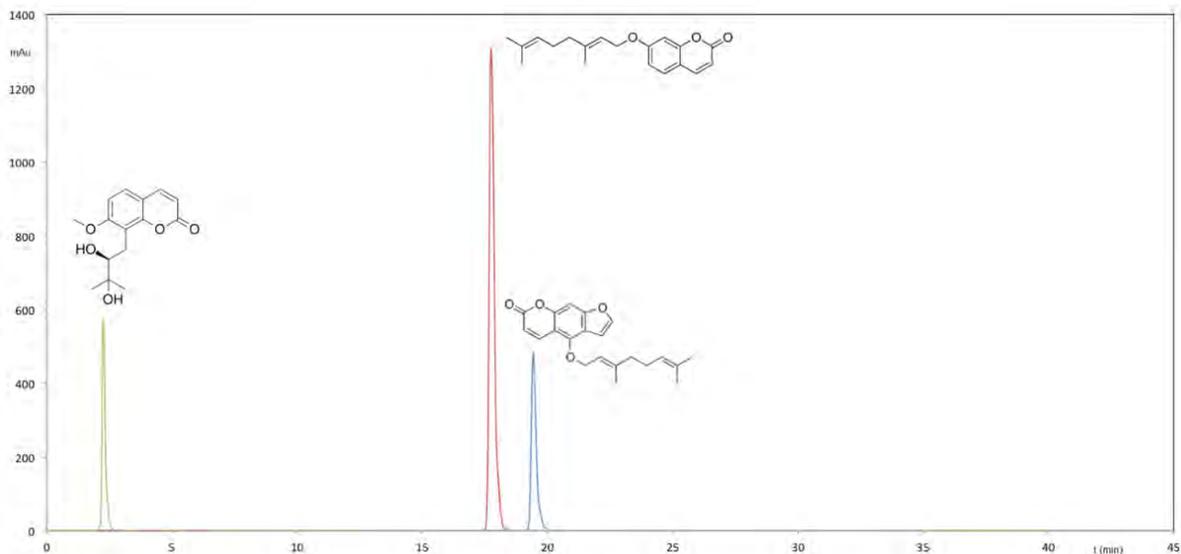


Figura 3.20 Estándares utilizados para identificar los compuestos no volátiles del aceite esencial de toronja, el pico verde corresponde a la meranzina, el pico rojo al aurapteno y el pico azul al bergamoteno.

Los mismos compuestos no volátiles que marca la norma ISO 3053:2004 son los que se encontraron en este trabajo, sólo que salieron de manera inversa en el cromatograma. Esto se debe a la naturaleza de la fase estacionaria de la columna, que propició una separación inversa corroborado con los estándares inyectados inicialmente.

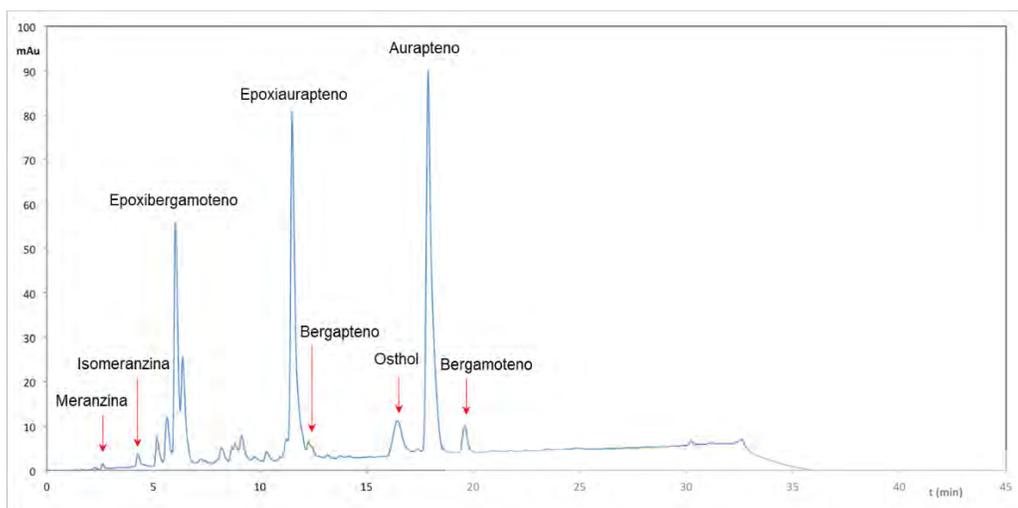


Figura 3.21 Cromatograma de HPLC a 280 nm para el aceite obtenido a 150 °C y 180 rpm.

El análisis cromatográfico de gases corrobora el análisis fisicoquímico, es un aceite de buena calidad que entra dentro de los parámetros de la norma ISO 3053:2004 (Anexo 1), con valores arriba de la media para los compuestos que contempla la normatividad, principalmente limoneno, decanal y nootkatona.

El análisis de HPLC, aunque solo es cualitativo, reconoce los principales compuestos no volátiles considerados por la normatividad internacional. Esto comprueba que la tecnología propuesta en este trabajo resulta en un aceite con los requerimientos de calidad que dicta la normatividad ISO, haciéndolo equiparable al aceite grado reactivo analítico.

#### 4. CONCLUSIONES

Los rendimientos son superiores a los reportados para los métodos tradicionales. Se plantea que esto obedece a la intervención de dos tipos de aporte combinados: Térmico y Mecánico, a diferencia de los procesos tradicionales.

El aceite obtenido cumple con los parámetros establecidos de acuerdo con la normatividad internacional ISO y en algunos rubros supera las condiciones que dicta dicha norma.

La productividad técnica y económica de este proceso es superior a los procesos tradicionales reportados para toronja y para otros cítricos.

El rendimiento de extracción de aceite esencial se ve influenciado por la uniformidad y compactación del tapón interno. Dicha uniformidad depende de la concentración de pectina proveniente del flavedo, y su solidificación o gelificación en función de las condiciones de operación del extrusor.

La disposición de los diferentes segmentos de husillo en distintas posiciones y con diferente separación define la configuración del doble husillo, que es el principal factor que influye en la acción de extrusión (que incluye la transformación del producto, la distribución del tiempo de residencia y la energía mecánica requerida para el proceso).

Las condiciones de operación del extrusor están ubicadas en el intermedio de las curvas de equilibrio Líquido-Vapor del agua y del limoneno, componente mayoritario del aceite esencial de toronja. El contenido de agua presente en las cáscaras de toronja dicta el comportamiento de la presión del sistema de extracción.

La presión registrada por el transductor de presión se atribuye a la presión de vapor generada en el extrusor y al aporte mecánico generado sobre la biomasa por su compactación en los segmentos del tipo contrafilete.

El proceso ofrece ventajas económicas al tener un tiempo de residencia (tiempo de proceso) más corto en comparación con los procesos tradicionales implementados a nivel industrial.

Las condiciones climáticas influyen en el contenido de aceite, es decir, a temperaturas más altas hay una menor cantidad de aceite en las vesículas oleosas.

No fue necesario implementar un proceso de pretratamiento del material que implique un aporte energético extra. La separación del aceite se puede lograr por decantación, por lo cual tampoco es necesario un proceso adicional de purificación tipo centrifugación, con un importante impacto favorable en la economía del proceso.

Esta técnica puede ser utilizada para esencias volátiles, como las utilizadas para perfumería o en cosmética, debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada para su separación.

## 5. RECOMENDACIONES

Este trabajo solo incluyo experimentos con un solo cítrico. Al inicio del proyecto se extrajo el aceite esencial de cuatro cítricos, y se comprobó la factibilidad de trabajar con los cuatro, por lo que se recomiendan trabajos a futuro con los tres cítricos de importancia comercial restantes: limón persa, naranja valencia y mandarina Fremont.

Para la extracción de aceite esencial se ocuparon 5 módulos del extrusor, por lo que quedan 5 módulos de los 10 con los que cuenta el extrusor. Una opción, puede ser la extracción de pectinas, que incluye una hidrólisis alcalina y poder llevar a cabo dos procesos en un solo equipo. La pectina es un producto de alto valor comercial, ya que tiene múltiples aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y recientemente en la manufactura de bioplásticos.

En este trabajo se midió el consumo de energía necesario para calentar los módulos utilizados del extrusor, por lo que un trabajo futuro será medir de manera experimental de energía consumida para mover el motor de la flecha del extrusor, así como el consumo de energía para el sistema de enfriamiento de los módulos y tener datos certeros del requerimiento total neto de energía en la extracción de aceite esencial.

## 6. REFERENCIAS

- Aburto, J., M. Moran, A. Galano, & E. Torres-García. (2015). Non-isothermal pyrolysis of pectin: a thermochemical and kinetic approach. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 112, 94-104.
- Agusti, M. M., C. Reig, A. & Martinez-Fuertes. (2014) Citrus production. In: Dixon G, Aldous DE (eds) Horticulture-plants for people and places, vol 1, Chapter 6. Springer, Heidelberg, pp. 159–196.
- Allaf, T., Tomao V., Ruiz K., Bachari K., El Maataoui M. & Chemat F. (2013). Deodorization by instant controlled pressure drop autovaporization of rosemary leaves prior to solvent extraction of antioxidants. *LWT – Food Science Technology*, 51, 111–119.
- Albaladejo, Q. M. (2003). Aportación a la monografía de normalización del aceite esencial de limón español [*Citrus limon* (L.) Burm. F.]. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Murcia.
- Armijo, J., Vicuña, E., Romero, P., Condorhuamán, C., & Hilario, B. (2012). Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 15(2), 19-27.
- Asfaw, N., Licence, P., Novitskii, A. A., & Poliakov, M. (2005). Green chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra*: a comparison of clean technology with conventional methodology. *Green Chemistry*, 7(5), 352-356.
- Bandoni, A. (2003). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. 2 ed. CYTED. Buenos Aires.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2015). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press. London.
- Batchelor, L.D., Sinclair, W.B., 1961. World production and important commercial varieties. In: W.B. (Ed.), *The Orange*, Sinclair. University of California Press, Berkeley.
- Bayramoglu, B., Sahin, S., & Sumnu, G. (2008). Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal of Food Engineering*, 88(4), 535-540.
- Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., & Del Río, J. A. (1997). Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4505-4515.

Board, N. I. I. R. (2011). *The Complete Technology Book of Essential Oils (Aromatic Chemicals) Reprint-2011*. Asia Pacific Business Press Inc.

Bousbia, N., M. Vian, M. Ferhat, B. Meklati y F. Chemat. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90 (3) 409-413.

Braddock, R.J. 1995. By-products of citrus fruits. *Food Technology*., 49, 74, 76-77.

Brandrup, J., & Immergut, E. H. (1975). *Polymer handbook*, 2. New York: Wiley.

Brat, P., D. Ollé, A.L. Gancel, M. Reynes y J.M. Brillouet. (2001). Essential oil obtienes by flash-expansion of peles from lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit. *Fruits*, 56 (6) 395-402.

Bruneton J. (2001) *Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales*. 2 ed. Acribia. Zaragoza.

Calvarano, I.; A. Ferlazzo y A. Di Giacomo (1979). Sulla com- posizione cumarinica e furocumarinica dell'essenza di bergamotto. *Essenze-Derivati Agrumari*, 59, 407.

Chen, J., Liang, R. H., Liu, W., Liu, C. M., Li, T., Tu, Z. C., & Wan, J. (2012). Degradation of high-methoxyl pectin by dynamic high pressure microfluidization and its mechanism. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 121-129.

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169-186.

Choi, H. S. (2006). Lipolytic effects of citrus peel oils and their components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9), 3254-3258.

Clextral Extrusion Expertise Excellence (2018). Extrusoras de Doble Tornillo. Recuperado de: <http://www.clextral.com>

Colas D. *et al.* (2013). Twin-screw extrusion techonology, an original solution for the extraction of proteins from alfalfa (*Medicago sativa*). *Food and Bioproducts Processing*, 91 (2) 175-182.

Consejo Estatal Agrícola (CONCITVER). (2018). La Citricultura en Veracruz: Producción estatal de Citricos. Recuperado de: [http://www.concitver.com/15\\_10citricultura.html](http://www.concitver.com/15_10citricultura.html)

Da Porto, C., Decorti, D., & Kikic, I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112(4), 1072-1078.

Diaz, S., S. Espinosa y E. A. Brignole. 2005. Citrus peel oil deterpenation with supercritical fluids optimal process and solvent cycle design. *Journal of Supercritical Fluids*, 35 (1) 49-61.

Donovalová, J., Cigáň, M., Stankovičová, H., Gašpar, J., Danko, M., Gáplovský, A., & Hrdlovič, P. (2012). Spectral properties of substituted coumarins in solution and polymer matrices. *Molecules*, 17(3), 3259-3276.

Dugo, G. 1994. The composition of the volatile fraction of the Italian citrus essential oils. *Perfums & Flavours*, 19 (2) 2951.

Dugo, P., Mondello, L., Sebastiani, E., Ottana, R., Errante, G., & Dugo, G. (1999). Identification of minor oxygen heterocyclic compounds of citrus essential oils by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 22(19), 2991-3005.

Dugo, G., & Mondello, L. (Eds.). (2010). Citrus oils: Composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity. CRC press.

Dugo, G., & Di Giacomo, A. (2002). Citrus: The genus citrus. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles Series. Taylor & Francis. Londres.

El-Otmani, M., Ait-Oubahou, A., & Zacarias, L. (2011). Citrus spp.: orange, mandarin, tangerine, clementine, grapefruit, pomelo, lemon and lime. In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Açai to Citrus* (pp. 437-516e).

Evon, Ph., V. Vandenbossche, P. Pontainer y L. Rigal. (2014). New termal insulation fiberboards from cake generated during biorefinery of sunflower whole plant in a twin-screw extruder. *Industrial Crops and Products*, 52 (1) 354-362.

Evon, P., Gamon, G., y Rigal, L. (2013). Twin-screw extrusion impact on natural fibre morphology and material properties in poly (lactic acid) based biocomposites. *Industrial Crops and Products*, 46, 173-185.

Evon, P., Vandenbossche, V., Pontalier, P. Y., & Rigal, L. (2009). Aqueous extraction of residual oil from sunflower press cake using a twin-screw extruder: feasibility study. *Industrial Crops and Products*, 29(2), 455-465.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2017). Citrus Fruit Fresh and Processed. Statistical Bulletin 2016. Rome.

Farhat, A., Ginies, C., Romdhane, M., & Chemat, F. (2009). Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A*, 1216(26), 5077-5085.

Feger, W., Brandauer, H., Gabris, P., & Ziegler, H. (2006). Nonvolatiles of commercial lime and grapefruit oils separated by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2242-2252.

Feng, W., & Zheng, X. (2007). Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food Control*, 18(9), 1126-1130.

Forlot, P. (2000). Cosmetic and cosmeceutic uses of bergamot oil. *Essenze e Derivati Agrumari*, 70(1), 3-7.

Forlot, P. (1998). Perspectives de la bergamotte dans le domaine pharmaceutique. *Essenze e Derivati Agrumari*, 68(1), 45-56.

Frérot, E., & Decorzant, E. (2004). Quantification of total furocoumarins in citrus oils by HPLC coupled with UV, fluorescence, and mass detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 6879-6886.

Furia, T. E. (1973). *CRC Handbook of Food Additives* (Vol. 2). CRC press. London.

García, E., P. Pérez y J.J. García. (2010). Necesidades de investigación y transferencia de tecnología de la cadena agroalimentaria toronja en el estado de Veracruz. Colegio de Posgraduados. Fundación Produce Veracruz. Veracruz.

Gasparro, F. P. (2018). *Psoralen DNA photobiology* (Vol. 2). CRC Press.

Gregory, D. J. H. (1986). In G. G. Birch & M. G. Lindley (Eds.), *Interactions of food components*, (pp. 211). Amsterdam: Elsevier.

Guinamant, J. L. (1992). Supercritical fluid extraction. Applications to flavours and perfumes. *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 104, 81-84.

Gutiérrez, C., J.F. Rodríguez, I. Gracia, A. de Lucas, M.T. García. 2013. High-pressure phase equilibria of Polystyrene dissolutions in Limonene in presence of CO<sub>2</sub>. *Journal of Supercritical Fluids* 84 (1) 211-220.

Harper, J. M. (1989). Food extruders and their applications. In *Extrusion cooking*, (C. Mercier, P. Linko y J.M. Harper, eds.) pp. 1-15, *American Association Of Cereal Chemists*. Minnessota.

Hernández-Meléndez, O., Peydecastaing, J., Bárzana, E., Vaca-García, C., Hernández-Luna, M., Borredon, ME. (2009). Graft polymerization of wood sawdust and peat with ethylene carbonate. A novel method for the preparation of supports with enhanced mechanical properties to be used in biofiltration of organic vapors. *Bioresource Technology*, 737-743.

Hollender, W. (2014). Ilustraciones de botánica. Recuperado de: <http://www.pinterest.es>

Inforural (2012) Cítricos: Producción nacional. Recuperado de: <http://www.inforural.com.mx>

ISO 279, Essential oils — Determination of relative density at 20 °C — Reference method

ISO 280, Essential oils — Determination of refractive index

ISO 592, Essential oils — Determination of optical rotation

ISO 1271, Essential oils — Determination of carbonyl value — Free hydroxylamine method

ISO 3053:2004 Oil of grapefruit (*Citrus x paradisi* Macfad.), obtained by expression

ISO 4715, Essential oils — Quantitative evaluation of residue on evaporation

ISO 9235:2013 Aromatic natural raw materials — Vocabulary

Isobe, S., Zuber, F., Uemura, K., & Noguchi, A. (1992). A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seeds. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(9), 884.

Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A. S., Georgiev, E. V., & Damianova, S. T. (2005). Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years. *International Journal of Food Science & Technology*, 40(3), 305-310.

Kamal, G. M., Anwar, F., Hussain, A. I., Sarri, N., & Ashraf, M. Y. (2011). Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels. *International Food Research Journal*, 18(4).

Kesterson, J. W., Hendrickson, R., & Braddock, R. J. (1971). Florida citrusoils. Univ. Florida Inst. *Food Agriculture Bulletin*, 749.

Kesterson, J.W. y R. Hendrickson (1958). Finding the best lemon for Florida -a report for progress. III. Evaluation of coldpressed Florida lemon oil and lemon bioflavonoids. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 71, 132-140.

Kesterson, J.W., MacDuff, O.R., (1948): Florida Citrus Oils. Commercial production methods and properties of essential oils (1947-1948 season). University of Florida, Gainesville, FL. *Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*, 452: 1-44.

Kurita, O., Fujiwara, T., & Yamazaki, E. (2008). Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 725-730.

Kurowska, E. M., & Manthey, J. A. (2004). Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), 2879-2886.

Ladanyia, M., & Ladaniya, M. (2010). *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. Academic press. Londres.

Legaz F, Serna MD, Ferrer P, Cebolla V, Primo-Millo E (1995) Análisis de hojas, suelos y aguas de riego para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. Procedimiento de toma de muestras. Generalitat Valenciana, *Fulletts de divulgació*, València.

Lin J. y R. L. Rouseff. (2006). Characterization of aroma-impact compounds in cold-pressed grapefruit oil using time-intensity GC-olfactometry and GC-MS. *Flavour and Fragrance Journal*, 16 (6) 457-463.

Lodge, N. y S.A. Wilkinson (1977). Additional information on the physical and chemical properties of New Zealand lemon peel oil. *New Zealand Journal of Science* 20(4), 461-463.

Londoño-Londoño, J., de Lima, V. R., Lara, O., Gil, A., Pasa, T. B. C., Arango, G. J., & Pineda, J. R. R. (2010). Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chemistry*, 119(1), 81-87.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., & Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: a multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1079-1086.

Lucien, F. P., & Foster, N. R. (2000). Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide: a review. *The Journal of Supercritical Fluids*, 17(2), 111-134.

Mabry, T. J., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The ultraviolet spectra of flavones and flavonols. In *The systematic identification of flavonoids* (pp. 41-164). Springer, Berlin, Heidelberg.

MacLeod, W. D., Jr. (1966). *California Citrograph*, 51, 120.

Madrigal, P.D., R. López y S. López. (1996) Aprovechamiento de Desperdicios de Beneficio de Limón. AIDIS. Consolidación para el Desarrollo. 25 (5) 1-5.

Magwa, M. L., Gundidza, M., Gweru, N., & Humphrey, G. (2006). Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 85-89.

- Manthey, J. A., & Guthrie, N. (2002). Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5837-5843.
- Martínez A. (2003). Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía. Medellín.
- Mason, J.T., Chemat, F., & Vinatoru, M. (2011). The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15(2), 237-247.
- Matasyoh, J. C., Kiplimo, J. J., Karubiu, N. M., & Hailstorks, T. P. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Tarhomonanthus camphoratus*. *Food Chemistry*, 101(3), 1183-1187.
- Merchand, R.M.A., 2005. La dinámica transnacional de la agroindustria del limón y su hinterland agrícola en el valle de Tecomán. *Análisis Económico*, 44(20):215-248.
- Metaxas, A. A., & Meredith, R. J. (1983). *Industrial microwave heating* (No. 4). IET.
- Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K., & Ohigashi, H. (1999). Identification of coumarins from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of in vitro tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3151-3157.
- Miller, GL. 1969. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Moshonas, M. G. (1971). Analysis of carbonyl flavor constituents from grapefruit oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(4), 769-770.
- Okunowo, W.O., O. Oyedeji, L.O. Afolabi y E. Matanmi (2013). Essential oil of grape fruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1-9.
- Owens, H. S., Lotzkar, H., Merrill, R. C., & Peterson, M. (1944). Viscosities of pectin solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 66(7), 1178-1182.
- Pendino, G. M. (1998). Il bergamotto in terapia medica: attualità e prospettive. *Essenze e Erivati Agrumari*, 68(1), 57-62.
- Piacentini, G. (1948). Antiseptic and disinfectant power of bergamot, orange, and lemon essences in aqueous solution against spore-bearing organisms. *Annals Hygiene*, 58, 1-11.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2), 593-606.

Poiana, M., Sicari, V., & Mincione, B. (1998). Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction of grapefruit flavedo. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(2), 125-130.

Rao, D. G. (1993). Studies on viscosity-molecular weight relationship of chitosan solutions. *Journal of Food Science and Technology (India)*, 30(1), 66-67.

Rezzoug, S.A. y N. Louka (2009). Thermomechanical process intensification for oil extraction orange peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 530-536.

Riaz, M. N. (Ed.). (2000). *Extruders in Food Applications*. CRC press. London.

Rodríguez, M.F., y M.G. Bernardo-Hill. 1995. Vapor-liquid equilibrium of binary mixtures of limonene with a-pinene and b-pinene at reduced pressures. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 40(6), 1193-1195.

Rojas, J.P., A. Perea y E.E. Stashenko. (2009). Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. *VITAE. Universidad de Antioquía*, 16 (1), 110-115.

Rombaut N., A.S. Tixier, A. Bily, F. Chemat. (2014). Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530-544.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2018). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx>

Sinclair, W. B. (1972). *The grapefruit: its composition, physiology & products*. UCANR Publications.

Skočibušić, M., Bezić, N., & Dunkić, V. (2006). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. *Food Chemistry*, 96(1), 20-28.

Sozmen, F., Uysal, B., Oksal, B. S., Kose, E. O., & Deniz, I. G. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum saccatum* PH Davis essential oil obtained by solvent-free microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Journal of AOAC International*, 94(1), 243-250.

Stanley, W. L., & Jurd, L. (1971). Citrus coumarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(6), 1106-1110.

Stanley, W. L., Ikeda, R. M., Vannier, S. H., & ROLLE, L. A. (1961). Determination of the relative concentrations of the major aldehydes in lemon, orange and grapefruit oils by gas chromatography. *Journal of Food Science*, 26(1), 43-48.

Stevens, K. L., Guadagni, D. G., & Stern, D. J. (1970). Odour character and threshold values of nootkatone and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21(11), 590-593.

Takahashi, Y., Inaba, N., Kuwahara, S., Kuki, W., Yamane, K., & Murakami, A. (2002). Rapid and convenient method for preparing aurapten-enriched product from hassaku peel oil: implications for cancer-preventive food additives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3193-3196.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.

The Dortmund Data Bank. (2018). Thermophysical data for design process. Vapor pressure calculation by Antoine equation (water) Recuperado de: <http://ddbonline.ddbst.de/AntoineCalculation/AntoineCalculationCGI.exe?component=Water>

Thibault, J. F., & Rombouts, F. M. (1986). Effects of some oxidising agents, especially ammonium peroxysulfate, on sugar-beet pectins. *Carbohydrate Research*, 154(1), 205-215.

Ting, S. V., & Deszyck, E. J. (1961). The carbohydrates in the peel of oranges and grapefruit. *Journal of Food Science*, 26(2), 146-152.

Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A., & Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89(4), 549-554.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*, 79(7).

Tripodo, M.M., F. Lanuzza, G. Micali, R. Coppolino y F. Nucita. 2004. Citrus waste recovery: a new environmental friendly procedure to obtain animal feed. *Bioresource Technology*, 91(2), 111-115.

United Nations Economic Commission for Europe (UNECE), 2010. UNECE Standard FFV-14. Recuperado de: <http://www.unece.org>

Uysal, B., F. Sozmen, O. Aktas, B.S. Oksal y E.O. Kose (2011). Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus paradisi* L.) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1455-1461.

Uysal, B., Sozmen, F., & Buyuktas, B. S. (2010a). Solvent-free microwave extraction of essential oils from *Laurus nobilis* and *Melissa officinalis*: comparison with

conventional hydro-distillation and ultrasound extraction. *Natural Product Communications*, 5(1), 111-114.

Uysal, B., Sozmen, F., Kose, E. O., Gokhan Deniz, I., & Oksal, B. S. (2010b). Solvent-free microwave extraction and hydrodistillation of essential oils from endemic *Origanum husnucanbaseri* H. Duman, Aytaç & A. Duran: comparison of antibacterial activity and contents. *Natural Product Research*, 24(17), 1654-1663.

Vilarem G., L. Rigal, V. Vanden-Bossche, J. Brault, M. Hernández, O. Meléndez, E. Vivaldo, E. Bárzana, M. Ballesteros, A. Duque, P. Manzanares, S. Siika, M. Uusitalo, J. Mata, S. Guillouet, E. Lombard y X. Cameleyre. (2013) Procédé de Traitement Enzymatique d'une Matière Ligno-cellulosique Solide. Patent No. Fr 2 991 691-A1. Institut National de la Propriété Industrielle. Paris.

Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernandez-Lopez, J. Pérez-Álvarez. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, 19 (12), 1130–1138.

Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., ... & Zeng, H. (2006a). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1-2), 11-17.

Wang, Z., Wang, L., Li, T., Zhou, X., Ding, L., Yu, Y., ... & Zhang, H. (2006b). Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook. f. and *Zingiber officinale* Rosc. by improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(6), 1863-1868.

Watson, E. L. (1966). Stress-Strain and Creep Relationships of Pectin Gels. *Journal of Food Science*, 31(3), 373-380.

White, J. L. (1991). *Twin Screw Extrusion: Technology and Principles*. Hanser. Munich.

## **ANEXO 1.**

ISO 3053:2004 OIL OF GRAPEFRUIT (*Citrus x paradisi* Macfad.), OBTAINED BY  
EXPRESSION

# INTERNATIONAL STANDARD

# ISO 3053

Second edition  
2004-10-01

---

---

## Oil of grapefruit (*Citrus × paradisi* Macfad.), obtained by expression

*Huile essentielle de pamplemousse (Citrus × paradisi Macfad.),  
obtenue par expression*



Reference number  
ISO 3053:2004(E)

© ISO 2004

**PDF disclaimer**

This PDF file may contain embedded typefaces. In accordance with Adobe's licensing policy, this file may be printed or viewed but shall not be edited unless the typefaces which are embedded are licensed to and installed on the computer performing the editing. In downloading this file, parties accept therein the responsibility of not infringing Adobe's licensing policy. The ISO Central Secretariat accepts no liability in this area.

Adobe is a trademark of Adobe Systems Incorporated.

Details of the software products used to create this PDF file can be found in the General Info relative to the file; the PDF-creation parameters were optimized for printing. Every care has been taken to ensure that the file is suitable for use by ISO member bodies. In the unlikely event that a problem relating to it is found, please inform the Central Secretariat at the address given below.

© ISO 2004

All rights reserved. Unless otherwise specified, no part of this publication may be reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying and microfilm, without permission in writing from either ISO at the address below or ISO's member body in the country of the requester.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Published in Switzerland

## Foreword

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

International Standards are drafted in accordance with the rules given in the ISO/IEC Directives, Part 2.

The main task of technical committees is to prepare International Standards. Draft International Standards adopted by the technical committees are circulated to the member bodies for voting. Publication as an International Standard requires approval by at least 75 % of the member bodies casting a vote.

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights.

ISO 3053 was prepared by Technical Committee ISO/TC 54, *Essential oils*.

This second edition cancels and replaces the first edition (ISO 3053:1975), which has been technically revised.



# Oil of grapefruit (*Citrus × paradisi* Macfad.), obtained by expression

## 1 Scope

This International Standard specifies certain characteristics of the oil of grapefruit (*Citrus × paradisi* Macfad.), obtained by expression, in order to facilitate assessment of its quality.

## 2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO/TR 210, *Essential oils — General rules for packaging, conditioning and storage*

ISO/TR 211, *Essential oils — General rules for labelling and marking of containers*

ISO 212, *Essential oils — Sampling*

ISO 279, *Essential oils — Determination of relative density at 20 °C — Reference method*

ISO 280, *Essential oils — Determination of refractive index*

ISO 592, *Essential oils — Determination of optical rotation*

ISO 1271, *Essential oils — Determination of carbonyl value — Free hydroxylamine method*

ISO 4715, *Essential oils — Quantitative evaluation of residue on evaporation*

ISO 11024-1, *Essential oils — General guidance on chromatographic profiles — Part 1: Preparation of chromatographic profiles for presentation in standards*

ISO 11024-2, *Essential oils — General guidance on chromatographic profiles — Part 2: Utilization of chromatographic profiles of samples of essential oils*

## 3 Terms and definitions

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply.

### 3.1

#### oil of grapefruit

essential oil obtained, without heating, by mechanical processing from the external part of the pericarp of the fruit of *Citrus × paradisi* Macfad., of the Rutaceae family

NOTE 1 The principal areas of production are the United States, Israel, Argentina, Cyprus, South Africa and Brazil.

NOTE 2 For information on the CAS number, see ISO/TR 21092.

## 4 Requirements

### 4.1 Appearance

Clear liquid with possible traces of precipitated waxes.

### 4.2 Colour

Yellow to pinkish orange.

### 4.3 Odour

A fresh citrus-like odour, characteristic of grapefruit peel.

### 4.4 Relative density at 20 °C, $d_{20}^{20}$

Minimum: 0,852 0

Maximum: 0,860 0

### 4.5 Refractive index at 20 °C

Minimum: 1,474 0

Maximum: 1,479 0

#### 4.6 Optical rotation at 20 °C

Between + 91° and + 96°.

#### 4.7 Total content of aldehydes

Minimum: 0,28 %  
Maximum: 2,00 % expressed as decanal ( $M_r = 156,3$ )

#### 4.8 Residue on evaporation

Maximum: 10 %

#### 4.9 Chromatographic profile

Analysis of the essential oil shall be carried out by gas chromatography. In the chromatogram obtained, the representative and characteristic components shown in Table 1 shall be identified. The proportions of these components, indicated by the integrator, shall be as shown in Table 1. This constitutes the chromatographic profile of the essential oil.

See ISO 7609.

Table 1 — Chromatographic profile

Component	Minimum %	Maximum %
$\alpha$ -Pinene	0,2	0,6
Sabinene	0,1	0,6
$\beta$ -Pinene	0,05	0,2
Myrcene	1,5	2,5
Limonene <sup>a</sup>	92	96
<i>n</i> -Octanal	0,2	0,8
<i>n</i> -Nonanal	0,04	0,1
<i>n</i> -Decanal	0,1	0,6
Neral	0,02	0,04
$\beta$ -Caryophyllene	0,2	0,5
Nootkatone	0,01	0,8

NOTE The chromatographic profile is normative, contrary to typical chromatograms given for information in Annexes A and B.

<sup>a</sup> In accordance with the present knowledge on this oil and the results of several physical tests carried out in this International Standard, it can be assured that this component is, predominantly, D-limonene.

#### 4.10 Flashpoint

Information on the flashpoint is given in Annex C.

### 5 Sampling

See ISO 212.

Minimum volume of test sample: 25 ml.

NOTE This volume allows each of the tests specified in this International Standard to be carried out at least once.

### 6 Test methods

#### 6.1 Relative density at 20 °C, $d_{20}^{20}$

See ISO 279.

#### 6.2 Refractive index at 20 °C

See ISO 280.

#### 6.3 Optical rotation at 20 °C

See ISO 592.

#### 6.4 Total aldehyde content

See ISO 1271.

Test portion: 10 g

Reflux time: 0,5 h

#### 6.5 Residue on evaporation

See ISO 4715.

Test portion: 3 g

Evaporation time: 5 h

#### 6.6 Chromatographic profile

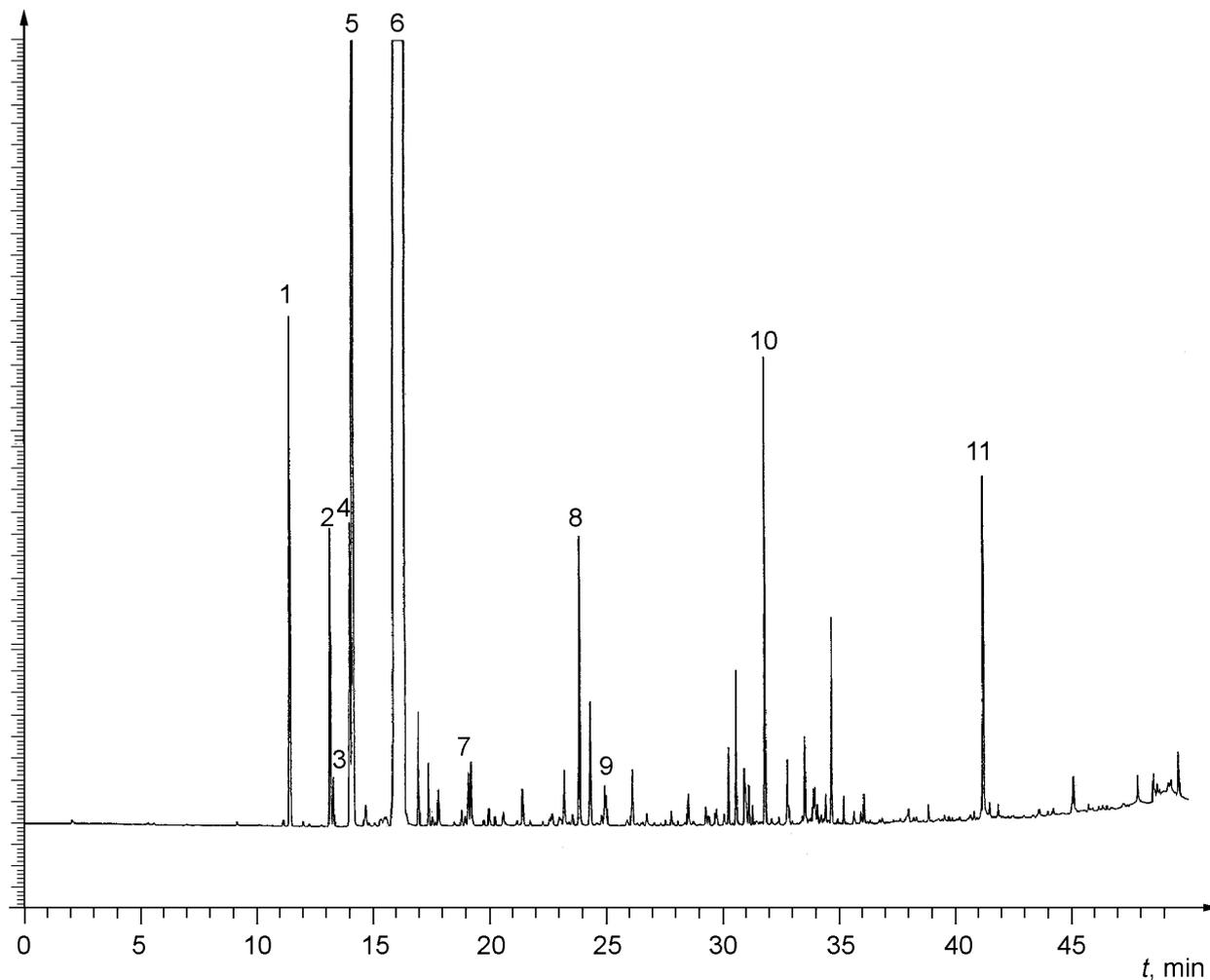
See ISO 11024-1 and ISO 11024-2.

### 7 Packaging, labelling, marking and storage

See ISO/TR 210 and ISO/TR 211.

## Annex A (informative)

### Typical chromatograms of the analysis by gas chromatography of the essential oil of grapefruit (*Citrus × paradisi* Macfad.), obtained by expression



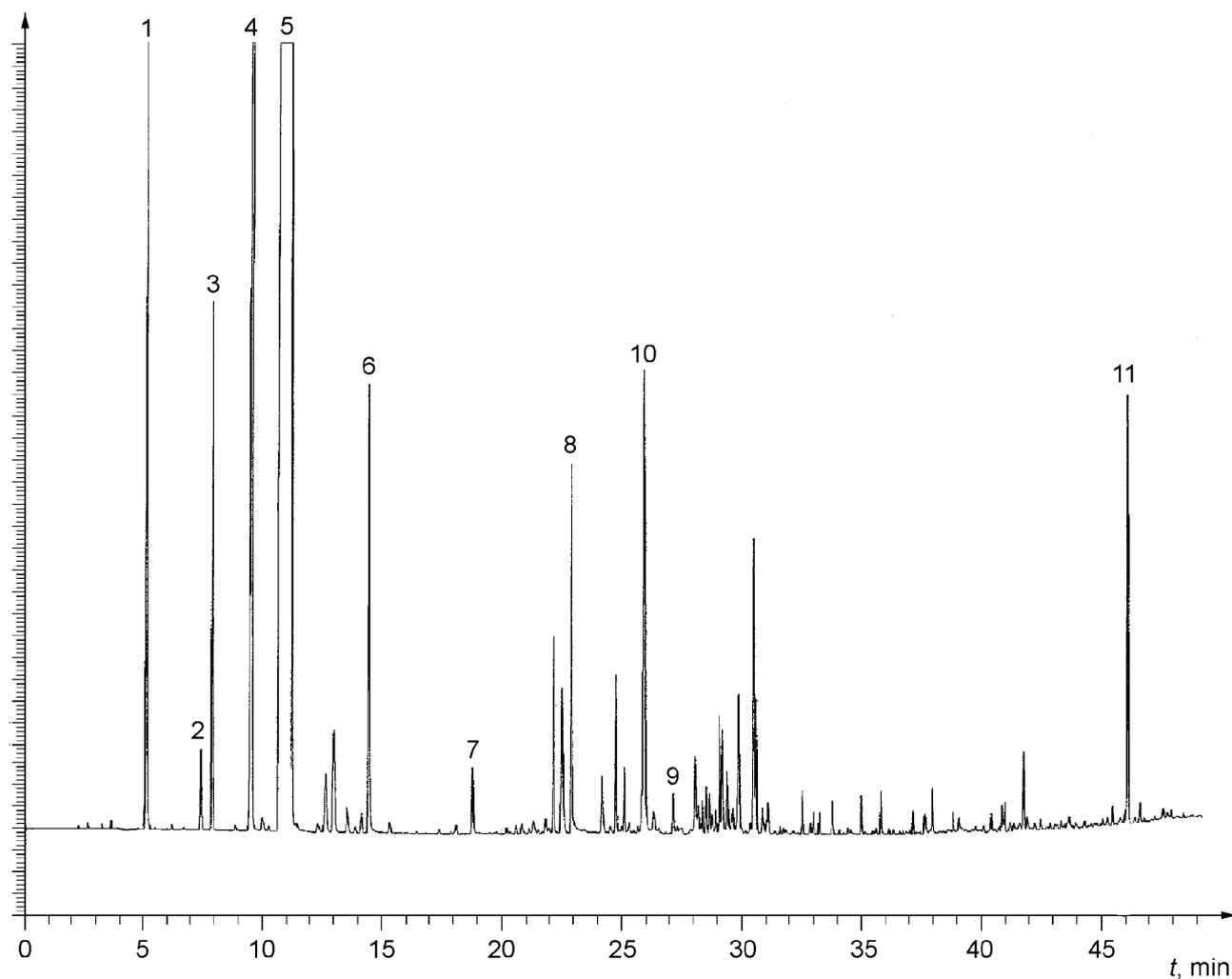
#### Peak identification

- |    |                        |
|----|------------------------|
| 1  | $\alpha$ -Pinene       |
| 2  | $\beta$ -Pinene        |
| 3  | Sabinene               |
| 4  | <i>n</i> -Octanal      |
| 5  | Myrcene                |
| 6  | Limonene               |
| 7  | <i>n</i> -Nonanal      |
| 8  | <i>n</i> -Decanal      |
| 9  | Neral                  |
| 10 | $\beta$ -Caryophyllene |
| 11 | Nootkatone             |

#### Operating conditions

Column: capillary; length 30 m; internal diameter 0,20 mm  
 Stationary phase: poly(5 % diphenyl/95 % dimethyl siloxane) (SP-5®)  
 Film thickness: 20  $\mu$ m  
 Oven temperature: isothermal at 75 °C for 5 min, then temperature programming from 75 °C to 100 °C at a rate of 5 °C/min, then from 100 °C to 220 °C at a rate of 6 °C/min and isothermal at 220 °C for 8,5 min  
 Injector temperature: 230 °C  
 Detector temperature: 260 °C  
 Detector: flame ionization type  
 Carrier gas: helium  
 Carrier gas flow rate: 22 ml/min  
 Volume injected: 1  $\mu$ l  
 Split ratio: 1/100

**Figure A.1 — Typical chromatogram taken on an apolar column**

**Peak identification**

- |    |                        |
|----|------------------------|
| 1  | $\alpha$ -Pinene       |
| 2  | Sabinene               |
| 3  | $\beta$ -Pinene        |
| 4  | Myrcene                |
| 5  | Limonene               |
| 6  | <i>n</i> -Octanal      |
| 7  | <i>n</i> -Nonanal      |
| 8  | <i>n</i> -Decanal      |
| 9  | Neral                  |
| 10 | $\beta$ -Caryophyllene |
| 11 | Nootkatone             |

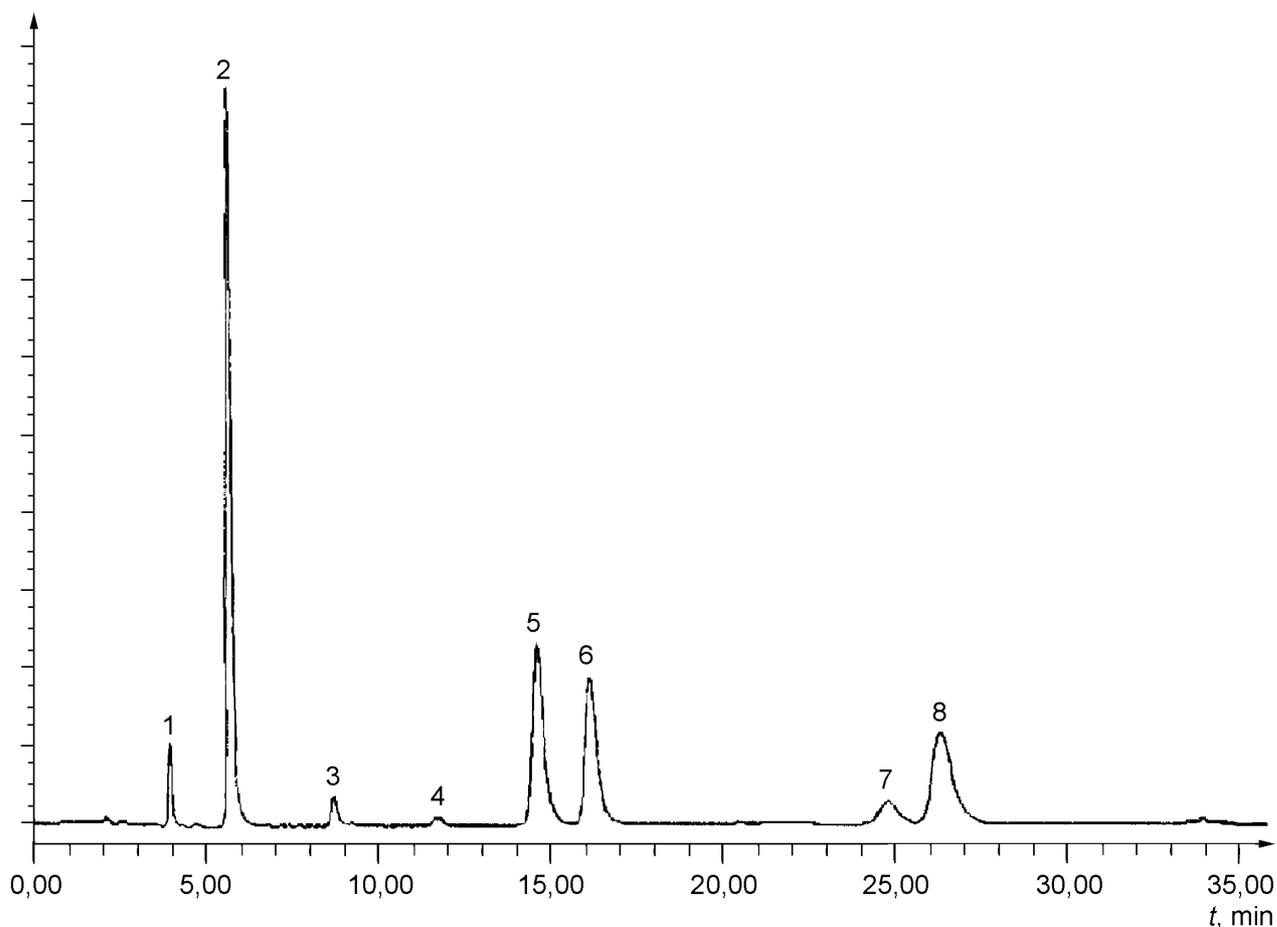
**Operating conditions**

Column: capillary; length 30 m; internal diameter 0,20 mm  
 Stationary phase: poly(ethylene glycol) (Carbowax<sup>®</sup>)  
 Film thickness: 20  $\mu$ m  
 Oven temperature: isothermal at 75 °C for 5 min, then temperature programming from 75 °C to 100 °C at a rate of 5 °C/min, then from 100 °C to 220 °C at a rate of 6 °C/min and isothermal at 220 °C for 8,5 min  
 Injector temperature: 230 °C  
 Detector temperature: 260 °C  
 Detector: flame ionization type  
 Carrier gas: helium  
 Carrier gas flow rate: 22 ml/min  
 Volume injected: 1  $\mu$ l  
 Split ratio: 1/100

**Figure A.2 — Typical chromatogram taken on a polar column**

## Annex B (informative)

### Typical chromatogram of the analysis by high-pressure liquid chromatography (HPLC) of the essential oil of grapefruit (*Citrus × paradisi* Macfad.), obtained by expression



#### Peak identification

- 1 Bergamottin
- 2 Aurapten
- 3 Osthol
- 4 Bergapten
- 5 Epoxybergamottin
- 6 Epoxyaurapten
- 7 Isomeranzin
- 8 Meranzin

#### Operating conditions

Column: C 18 bonded silica (Sherisorb 5 ods<sup>®</sup> or equivalent<sup>1)</sup>)

Eluents:

A: water/acetic acid (98 %/2 %)

B: acetonitrile

Flow rate 1,5 ml/min

Volume injected: 5,0 µl

UV detection: wavelength of 280 nm from  $t = 0$  min to  $t = 20$  min and then wavelength of 313 nm until the end

**Figure B.1 — Typical chromatogram of the analysis by HPLC**

1) Sherisorb 5 ods is an example of a suitable product available commercially. This information is given for the convenience of users of this International Standard and does not constitute an endorsement by ISO of this product.

## Annex C (informative)

### Flashpoint

#### C.1 General information

For safety reasons, transport companies, insurance companies and people in charge of safety services require information on the flashpoints of essential oils, which in most cases are flammable products.

A comparative study on the relevant methods of analysis (see ISO/TR 11018) concluded that it was difficult to recommend a single apparatus for standardization purposes, given that:

- there is a wide variation in the chemical composition of essential oils;
- the volume of the sample needed for certain requirements would be too costly for high-priced essential oils;
- as there are several different types of equipment which can be used for the determination, users cannot be expected to use one specified type only.

Consequently, it was decided to give a mean value for the flashpoint in an informative annex to each International Standard, in order to meet the requirements of the interested parties.

The equipment with which this value was obtained should be specified.

For further information, see ISO/TR 11018.

#### C.2 Flashpoint of the essential oil of grapefruit

The mean value is + 43 °C.

NOTE Obtained with "Luchoire" equipment.

## Bibliography

- [1] ISO/TR 11018:1997, *Essential oils — General guidance on the determination of flashpoint*
- [2] ISO/TR 21092:2004, *Essential oils — Characterization*

---

---

**ICS 71.100.60**

Price based on 7 pages