

Aprovechamiento de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la Ciudad de San Juan de Pasto mediante la extracción secuencial de aceite esencial y compuestos bioactivos

Gregory Ordoñez Gomez

Universidad de Nariño

Facultad de Ingeniería Agroindustrial

Programa de Ingeniería Agroindustrial

San Juan de Pasto

2022

Aprovechamiento de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la Ciudad de San Juan de Pasto mediante la extracción secuencial de aceite esencial y compuestos bioactivos

Gregory Ordoñez Gomez

Trabajo de grado en modalidad investigación presentado como requisito para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial.

Asesor:

MSc William Alexander Díaz López

Universidad de Nariño

Facultad de Ingeniería Agroindustrial

Programa de Ingeniería Agroindustrial

San Juan de Pasto

2022

Nota de Responsabilidad

Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación.

Ph.D OSWALDO OSORIO MORA

Jurado

MSc. RENATO PANTOJA GUERRERO

Jurado

MSc. WILLIAM ALEXANDER DÍAZ LÓPEZ

Asesor

San Juan de Pasto, Mayo de 2022

Dedicatoria

Esta gran meta cumplida la entrego primordialmente a Dios y María Santísima, los motores de mi vida, quienes bendicen mi camino día tras día, permitiéndome superar las dificultades y obstáculos que se presente en el diario vivir en busca de mis metas e ilusiones. A mi madre Libia Gomez Urbano, mi padre Jesús Erley Ordoñez Gomez por su apoyo incondicional e infinito, por estar presentes en todo momento sin importar las condiciones, por haberme apoyado en este sueño tan grande de convertirme en un profesional. A mi hermana Nelly Paola Ordoñez Gómez, por apoyarme y animarme en el trascurso de mi formación. Gracias a toda mi familia, gracias infinitas mamá, papá y hermana, lo logramos, porque sé que este no solo era mi sueño sino también, el de ustedes.

Gregory Ordoñez Gomez

Agradecimientos

El autor de este trabajo expresa sus agradecimientos a:

Principalmente a DIOS y MARÍA Santísima por guiarme, por darme fortaleza y sabiduría para culminar este proyecto de grado y mi carrera universitaria de manera satisfactoria.

A mi familia por apoyarme en cada momento de mi vida y ser la inspiración para cumplir cada meta propuesta.

A nuestra Alma Mater, la Universidad de Nariño por permitirme ser parte de ella, por haberme alojado en su campus para tener una preparación académica idónea, permitiéndome crecer de manera personal y profesional.

Al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias) por el apoyo económico al proyecto “Obtención de compuestos bioactivos mediante el aprovechamiento y manejo sostenible de residuos vegetales generados en las plazas de mercado del municipio de Pasto” de la convocatoria 818, así como también al PhD Oswaldo Osorio Mora director del Grupo de Apoyo a la Investigación y Desarrollo Agroalimentario (GAIDA), quien actualmente lidera el desarrollo del proyecto en mención.

A todos los docentes que contribuyeron a mi formación académica, profesional y personal. Especialmente, MSc William Alexander Díaz López, al PhD Vladimir Vallejo Castillo, al Ingeniero Esteban Hernán Arteaga Cabrera, Ingeniera Amparo Guevara por haberme orientado y apoyado en el desarrollo de este proyecto.

El autor del presente estudio también agradece al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias) por el apoyo económico al proyecto “Obtención de compuestos bioactivos mediante el aprovechamiento y manejo sostenible de residuos vegetales generados en las plazas de mercado del municipio de Pasto” de la convocatoria de 818, así como también al PhD Oswaldo Osorio Mora director del Grupo de Apoyo a la Investigación y Desarrollo Agroalimentario (GAIDA), quien actualmente lidera el desarrollo del proyecto en mención

Resumen

En la actualidad existe interés por el aprovechamiento de los residuos debido a su alto potencial en la obtención de productos con alto valor agregado. Este estudio se centró en determinar el potencial de residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” como fuentes de aceite esencial y compuestos bioactivos compuestos activos de interés industrial. Inicialmente se comparó el porcentaje de rendimiento de aceite esencial mediante las técnicas de arrastre por vapor (AV) e hidrodestilación asistida por microondas (MAHD). Las cáscaras resultantes de la técnica que ofreció mayor rendimiento se secaron, molieron y tamizaron para obtener un tamaño de partícula uniforme, posteriormente se encontraron las condiciones óptimas de extracción por medio de la técnica asistida por ultrasonido (UEA). Se aplicó un Diseño Central Compuesto (DCC) con una metodología de Superficie Respuesta (RSM), evaluando los factores temperatura, relación sólido/solvente g:mL y porcentaje de solvente (etanol) . Los resultados mostraron que MAHD presentó mayor rendimiento porcentual con $4,028 \pm 0,120$ base seca (DW) en comparación con el método de AV $2,082 \pm 0,091$ DW. Las condiciones que maximizaron simultáneamente las variables de respuesta fueron: temperatura $64,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, relación sólido:solvente $1:55,3\text{ g/mL}$ y solvente $69,8\%$ etanol, para obtener un contenido total de polifenoles TPC de $3054,77 \pm 193,50\text{ mg GAE/100 g FW}$, contenido total de flavonoides TFC de $1108,42 \pm 78,48\text{ mg CE/100 g FW}$, capacidad antioxidante mediante DPPH de $2228,7 \pm 113,0\text{ }\mu\text{mol Trolox/100 g FW}$ y EC50 de $1,58\text{ mg/mL}$. Los resultados obtenidos indicaron que los residuos de cáscara de naranja tienen un alto potencial para la obtención de compuestos de alto valor agregado.

Palabras claves: Valorización de residuos, cáscaras de naranja, aceite esencial, polifenoles, flavonoides.

Abstract

Currently, there is interest in the use of wastes due to their high potential for obtaining products with high added value. This study focused on determining the potential of orange (*Citrus sinensis*) peel residues generated in the "El Potrerillo" market place as sources of essential oil and bioactive compounds of industrial interest. Initially, the percentage yield of essential oil was compared using vapor entrainment (AV) and microwave-assisted hydrodistillation (MAHD) techniques. The peels resulting from the technique that offered the highest yield were dried, ground and sieved to obtain a uniform particle size, then the optimal extraction conditions were found by means of the ultrasound-assisted technique (UEA). A Composite Central Design (CCD) with a Response Surface Methodology (RSM) was applied, evaluating the factors temperature, solid/solvent ratio g:mL and solvent percentage (ethanol) . The results showed that MAHD presented higher percentage yield with 4.028 ± 0.120 dry basis (DW) compared to the AV method 2.082 ± 0.091 DW. The conditions that simultaneously maximized the response variables were: temperature 64.7°C , solid:solvent ratio 1: 55.3 g/mL and solvent 69.8 % ethanol, to obtain a total polyphenol content TPC of 3054.77 ± 193.50 mg GAE/100 g FW, total flavonoid content TFC of 1108.42 ± 78.48 mg CE/100 g FW, antioxidant capacity by DPPH of 2228.7 ± 113.0 $\mu\text{mol Trolox/100 g FW}$ and EC50 of 1.58 mg/mL. The results obtained indicated that orange peel wastes have a high potential for obtaining high value-added compounds.

Keywords: Waste valorization, orange peels, essential oil, polyphenols, flavonoids.

Contenido

	Pág.
Introducción.....	20
1. Planteamiento del Problema	23
2. Justificación	26
3. Marco Teórico.....	28
3.1. Plazas de Mercado -----	28
3.2. Residuos -----	28
3.2.1. Residuos Sólidos Orgánicos o Biodegradables.....	29
3.2.2. Valorización de residuos.....	30
3.3. Aspectos Generales de la Naranja (<i>Citrus sinensis</i>) -----	30
3.3.1. Origen y Variedad	30
3.3.2. Condiciones Climáticas	31
3.3.3. Producción en Colombia.....	31
3.3.4. Anatomía de la Naranja	31
3.3.4.1. Flavedo o Epicarpio (Exocarpo).	32
3.3.4.2. Albedo (Mesocarpo).....	32
3.3.4.3. Endocarpo.....	32
3.4. Aceites Esenciales -----	32
3.4.1. Extracción por Arrastre por Vapor (AV).....	33
3.4.2. Hidrodestilación Asistida por Microondas (MAHD)	33
3.5. Compuestos Bioactivos -----	34
3.5.1. Compuestos Fenólicos.....	34

3.5.1.1. Flavonoides.....	34
3.5.1.2. Compuestos Antioxidantes.	35
3.5.2. Radical Libre.....	35
3.6. Extracción Asistida por Ultrasonido (UEA) -----	35
3.6.1. Parámetros que Afectan la UEA	36
3.6.1.1. Solvente.	36
3.6.1.2. Tiempo de Extracción.	37
3.6.1.3. Temperatura.....	37
3.6.1.4. Relación sólido:solvente.....	38
3.6.1.5. Potencia.	38
3.6.2. Diseño Central Compuesto (DCC).....	38
4. Marco Legal.....	39
5. Antecedentes.....	41
6. Objetivos.....	44
6.1. Objetivo General-----	44
6.2. Objetivos Específicos -----	44
7. Metodología	45
7.1. Caracterización Fisicoquímica de los Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>) Generados en la Plaza de Mercado el “El Potrerillo” de la Ciudad de Pasto. -----	46
7.1.1. Pruebas Fisicoquímicas	46
7.1.1.1. pH.....	46
7.1.1.2. Determinación de Acidez.	47
7.1.1.3. Determinación de Humedad.	48

7.2. Determinación del Rendimiento de Extracción de Aceite Esencial Mediante Arrastre por Vapor e Hidrodestilación Asistida por Microondas de Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)-----	48
7.2.1. Arrastre por Vapor (AV)	49
7.2.1.1. Descripción del Montaje de AV.	50
7.2.1.2. Metodología Empleada para la Extracción Mediante Arrastre por Vapor.	52
7.2.2. Hidrodestilación Asistida por Microondas (MAHD)	54
7.2.2.1. Descripción del Montaje (MAHD).	54
7.2.2.2. Metodología Empleada Para la Extracción Mediante (MADH).....	55
7.2.3. Cálculo del Rendimiento de Extracción	56
7.3. Evaluación de la Influencia de los Parámetros de la Extracción Asistida por Ultrasonido en la obtención de Polifenoles y Flavonoides Totales Presentes en Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>). -----	57
7.3.1. Obtención de Compuestos Bioactivos (TPC y TFC) Mediante EUA	57
7.3.1.1. Obtención de Residuos Secos de Cáscara de Naranja.	57
7.3.1.2. Determinación del TPC (Método Colorimétrico de Folin-Ciocalteu).	58
7.3.1.3. Determinación del TFC (Método Colorimétrico Cloruro de Aluminio).	58
7.3.1.4. Curva de Calibración de Polifenoles.....	59
7.3.1.5. Curva de Calibración Flavonoides.	59
7.3.1.6. Determinación de la Actividad Antioxidante (Método DPPH).	59
7.3.1.7. Determinación de la Actividad Antioxidante (Método ABTS).....	60
7.3.1.8. Cinética de Extracción.	60
7.3.2. Diseño Experimental Central Compuesto (DCC) de Superficie de Respuesta (SR) ...	61

7.3.3. Optimización y Validación de las Condiciones Optimas	63
7.3.4. Determinación de la concentración efectiva EC50.	63
8. Resultados y Discusión.....	64
8.1. Caracterización Fisicoquímica de los Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>) Generados en la Plaza de Mercado el “El Potrerillo” de la Ciudad de Pasto. -----	64
8.1.1. Determinación de pH, Porcentaje de Acidez Titulable y Porcentaje de humedad	64
8.2. Determinación del Rendimiento de Extracción de Aceite Esencial Mediante Arrastre por Vapor e Hidrodestilación Asistida por Microondas de Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>). -----	66
8.2.1. Rendimiento de Extracción Mediante Arrastre por Vapor	66
8.2.2. Rendimiento de Aceite Esencial Mediante (MAHD).....	68
8.3. Evaluación de la Influencia de los Parámetros de la Extracción Asistida por Ultrasonido en la obtención de Polifenoles y Flavonoides Totales Presentes en Residuos de Cáscaras de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>). -----	72
8.3.1. Curva de Calibración de Polifenoles y Flavonoides	72
8.3.2. Cinética de Extracción.....	72
8.3.3. Modelamiento Matemático para la Extracción de TPC y TFC a Frecuencia de 37 KHz	77
8.3.4. Metodología Superficie de Respuesta, Diseño Central Compuesto (DCC).	80
8.3.5. Modelo Polinomial de Segundo Orden	82
8.3.6. Influencia de los Factores de Estudio	83
8.3.6.1. Efecto del Porcentaje de Solvente en la UEA de TPC y TFC.	85
8.3.6.2. Efecto de la Temperatura en UEA de TPC y TFC.....	86

8.3.6.3. Efecto de la Relación sólido:solvente en la UEA de TPC y TFC.....	87
8.3.7. Optimización de los factores.....	88
8.3.8. Validación e Idoneidad de Método	92
8.3.9. Determinación de la Capacidad Antioxidante (DPPH) utilizando las Variables Optimizadas.....	95
8.3.10. Determinación EC50 para los residuos de cáscara de naranja (Citrus sinensis).....	96
9. Conclusiones	98
10. Divulgación.....	99
11. Recomendaciones.....	100
Bibliografía	101
Anexos.....	119

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1 Materiales y equipos utilizados para la extracción de aceite esencial mediante arrastre por vapor.....	50
Tabla 2 Materiales utilizados para la extracción de aceite esencial mediante MAHD.	54
Tabla 3 Diseño experimental para la extracción de TPC y TFC de la cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante UEA.	62
Tabla 4 Propiedades fisicoquímicas de los residuos de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>).	64
Tabla 5 Rendimiento de aceite esencial de residuos de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante arrastre por vapor.....	66
Tabla 6 Rendimiento de MAHD de aceite esencial de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>).	68
Tabla 7 Comparación del rendimiento de extracción de aceite esencia de los mejores tratamientos (AV y MAHD).....	70
Tabla 8 Parámetros cinéticos del modelamiento matemático a frecuencia 37 KHz para el TPC y TFC.	80
Tabla 9 DCC para la optimización de extracción de compuestos bioactivos.	81
Tabla 10 Características del modelo cuadrático para la UEA de extracción del TPC y TFC. ..	83
Tabla 11 Comparación de valor experimental y predicho para el TPC y TFC de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) bajo las condiciones óptimas.	93

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 Clasificación de residuos sólidos Según la Norma Técnica Colombiana GTC 24 del Instituto Colombiano de Normas Técnicas y certificadas (ICONTEC 2009).	29
Figura 2 Diagrama de flujo para la presente investigación.	45
Figura 3 Montaje para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante AV.	52
Figura 4 Montaje de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante MAHD.	55
Figura 5 Cinética de extracción para el TPC de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) a frecuencias de 37 y 80 KHz.	73
Figura 6 Cinética de extracción para el TFC de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) a frecuencias de 37 y 80 KHz.	74
Figura 7 Modelamiento matemático para la cinética de extracción de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) a una frecuencia de 37 KHz para el TPC (a) y TFC (b).	78
Figura 8 Gráficos de Pareto para el TPC (a) y TFC (b) extraídos mediante EUA.	85
Figura 9 Superficie de respuesta (a) y contorno de interacción (b) para el TPC de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) (el porcentaje de solvente fue 69,8 %).	90
Figura 10 Superficie de respuesta (a) y contorno de interacción (b) para el TFC de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) (el porcentaje de solvente fue 69,8 %).	91
Figura 11 Superposición de contornos para la EUA del TPC y TFC presentes en cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>).	92

Figura 12	Modelamiento matemático para EC50 de los residuos de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>).....	96
-----------	---	----

Lista de Anexos

	Pág.
Anexo 1 Medición de pH y acidez titulable.	119
Anexo 2 Cantidad de aceite en (g) y rendimiento porcentual en (DW) mediante arrastre por vapor.	120
Anexo 3 Prueba de normalidad y homocedasticidad (a) y análisis de varianza (b) para los resultados obtenidos mediante AV.	121
Anexo 4 Tratamientos de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante Arrastre por Vapor.	122
Anexo 5 Cantidad de aceite en (g) y rendimiento porcentual en (DW) mediante MAHD....	123
Anexo 6 Prueba de normalidad y homocedasticidad (a) y análisis de varianza (b) para los resultados obtenidos mediante MAHD.	124
Anexo 7 Tratamientos de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante MAHD.	125
Anexo 8 Comportamiento del % de rendimiento de extracción de aceite esencial de cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) mediante MAHD con relación solido:solvente diferentes.	126
Anexo 9 Comparación de rendimiento de extracción mediante AV y MAHD utilizando la prueba t para muestras independientes.	127
Anexo 10 Curva de calibración ácido gálico para TPC (a), curva de calibración catequina para TFC (b).	128

Anexo 11	Análisis de varianza para la cinética de extracción de residuos de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) para el TPC y TFC a frecuencias de (37 y 80 KHz) mediante UEA.	129
Anexo 12	Nivel de las variables de estudio y sus respectivas absorbancias en residuos de cáscara de naranja para el TPC (a) y TFC (b).	130
Anexo 13	Normalidad y homocedasticidad para el TPC y TFC aplicando un DCC mediante UEA.	132
Anexo 14	Análisis de varianza del Diseño Central Compuesta (DCC), modelo cuadrático, para TPC (a) y para TFC (b).	133
Anexo 15	Curva de calibración radical DPPH (a), curva de calibración radical ABTS (b)....	134
Anexo 16	Curva de correlación entre los radicales DPPH y ABTS.....	135

Introducción

Los alimentos se desperdician a lo largo de toda la cadena de suministro desde la producción hasta el consumo final, para el año 2021 se estima que un tercio del total de la producción se perdió. Para las frutas y verduras cultivadas en el todo el mundo los desperdicios son casi la mitad del total (FAO, 2021), los subproductos de frutas y hortalizas durante su procesamiento representan un valor de 25 – 30 % (Kumar *et al.*, 2021). Los cítricos se caracterizan por tener abundante producción en regiones tropicales y subtropicales, entre ellos, la naranja dulce (*Citrus sinensis*) que constituye aproximadamente un 70% de total de los cítricos cultivados (Sharma *et al.*, 2017).

Las cáscaras de cítricos están constituidas por albedo con aproximadamente un 17% de peso total de la fruta y la parte exterior flavedo con un 10% el cual es fuente atractiva de compuestos fenólicos como flavonoides, antioxidantes naturales (carotenoides) y aceites esencial (Anticono *et al.*, 2021).

Los residuos de cítricos se caracterizan por tener un pH bajo, alto contenido de humedad y materia orgánica que los hacen inapropiados para ser depositados en los vertederos (Santiago *et al.*, 2020).

Actualmente, la recuperación de compuestos bioactivos utilizando técnicas emergentes se ha convertido en tema de investigación agroalimentario, logrado mejores rendimientos, además son métodos amigables con el ambiente (Razola-Díaz *et al.*, 2021). Los residuos de cítricos especialmente las cáscaras son fuente de compuestos de valor agregado, por esta razón se pueden encontrar varias formas de aprovechar y valorizarlos mediante la extracción de aceites, compuestos bioactivos y polifenoles (Brahmi *et al.*, 2021). El aceite esencial de naranja se localiza en la cáscara, se caracteriza por ser una mezcla de compuestos volátiles como los

terpenos y derivados oxigenados como los aldehídos, alcoholes y esterres, las tendencias actuales para su recuperación buscan ser ambientales, reducir el consumo de energía y utilizar solventes verdes (Razzaghi *et al.*, 2019). Por su parte los polifenoles son antioxidantes naturales que contribuyen en las cualidades sensoriales y nutricionales de las frutas y verduras, estos metabolitos secundarios se caracterizan por su capacidad antioxidante y antiinflamatoria.

Existen muchas técnicas para la recuperación de aceites esenciales una de ellas es mediante AV, en esta se inyecta vapor a las materias primas permitiendo la separación y clarificación de compuestos insolubles en agua, generalmente en esta técnica se requieren altas cantidades de material vegetal (Dewi *et al.*, 2018), sin embargo, algunos inconvenientes como el alto consumo de energía por los tiempos largos de operación y temperaturas elevadas, pueden ir en perjuicio de los componentes del aceite (Razola-Díaz *et al.*, 2021). Por su parte, el método de extracción no convencional como la hidrodestilación asistida por microondas (MAHD), son catalogadas tecnologías emergentes o “verdes”, su funcionamiento es similar a la hidrodestilación tradicional, pero con la diferencia que para este caso las microondas generan daños en la estructura celular facilitando y mejorando las condiciones de extracción como: tiempos más cortos, menor consumo energético, mayor rendimiento y lo mejor, sin que la composición del aceite sufra cambios (Razola-Díaz *et al.*, 2021). La MAHD utiliza las microondas como fuente de calor, el calentamiento con este método es instantáneo y se genera en el interior de la muestra acelerando el proceso de extracción (Franco-Vega *et al.*, 2016).

Para la recuperación de compuestos bioactivos actualmente es de gran interés el concepto de “Tecnología verde”, la cual busca el desarrollo de técnicas respetuosas con el ambiente. La extracción asistida por ultrasonido (UEA) permite recuperar compuestos fenólicos utilizando un rango de frecuencias de (20 – 100 KHz), se caracteriza por su alta reproducibilidad, tiempos

cortos, fácil manejo, bajo consumo de solventes, baja temperatura y retención de la calidad del extracto. Esta técnica se fundamenta en el proceso de cavitación generado durante la sonicación provocando fenómenos como fragmentación, erosión localizada, formación de poros, fuerzas de corte, mayor absorción, índice de hinchamiento de las células y posterior ruptura de la pared celular, mejorando la velocidad de difusión a través de la pared para un mejor lavado del contenido celular (Khan *et al.*, 2010). La UEA se ha utilizado con éxito en la extracción de polifenoles, carotenoides, polisacáridos, etc., para mejorar la cantidad de productos obtenidos se evalúan algunas variables como frecuencia, ciclo de trabajo, relación sólido:líquido, tiempo y tipo de solvente, esto para determinar condiciones óptimas de extracción (Kumar *et al.*, 2021).

El objetivo de este estudio fue evaluar alternativas que permitan el aprovechamiento de los residuos de cáscaras de naranja como fuentes ricas en compuestos de valor agregado. La extracción de aceite esencial se realizó mediante AV y MAHD obteniendo un rendimiento de $2,082 \pm 0,091$ y $4,028 \pm 0,120$ DW respectivamente. Luego se optimizó el proceso de extracción de TPC y TFC mediante un DCC, como resultado se encontró; relación sólido/solvente 1:55,3 g:mL, solvente 69,8 % y temperatura 64,7 °C, para obtener un TPC de $3054,77 \pm 179,50$ mg GAE/100 g FW y TFC de $1108,42 \pm 78,42$ mg CE/100 g FW. Lo anterior permitió determinar que los métodos de extracción alternativos ofrecen ventajas en cuanto a tiempo, consumo energético y rendimiento.

1. Planteamiento del Problema

En Colombia la producción agrícola genera gran cantidad de residuos sólidos causando un alto impacto ambiental. A nivel municipal el aumento de estos ha sido impulsado por el incremento poblacional, cambios en los estilos de vida y crecimiento económico; haciendo visible la importancia de desarrollar alternativas para el manejo adecuado en cuanto a eliminación y tratamiento de dichos residuos (Danish *et al.*, 2019). En Colombia el aprovechamiento de residuos sólidos orgánicos es considerado como un proceso aislado sin mayor impacto en la actividad económica del país (Castañeda-Torres & Rodriguez-Miranda, 2017).

Sectores como el de frutas y hortalizas han tenido un crecimiento representativo en los últimos años por su alta demanda debido a su valor nutricional y beneficios para la salud. Sin embargo, durante su comercialización existen pérdidas significativas asociadas al bajo manejo postcosecha, ineficiencia en la gestión de almacenamiento e inventarios, daños en el embalaje, uso de poca o mala tecnología e inexistencia de cadena de frío (Amitic *et al.*, 2017), generando gran cantidad de residuos sólidos vegetales de fácil deterioro microbiano desencadenando problemas ambientales y económicos (Castañeda Torres & Rodriguez Miranda, 2017). Lo anterior hace necesario aprovechar de manera eficiente, económica y sostenible los residuos que se generan en las plazas de mercado o centros de abasto, de manera que puedan ser utilizados como una fuente prometedora de compuestos con características nutricionales que valoricen los residuos, transformándolos en productos con alto valor agregado como aceites esenciales y compuestos bioactivos (Alzate *et al.*, 2017).

Los aceites esenciales son una mezcla compleja de compuestos volátiles con olores característicos según su origen, en su mayoría corresponden a terpenos de hidrocarburos y

terpenoides caracterizados por tener bajo peso molecular, producidos por diferentes tejidos vegetales y almacenados en células secretoras especializadas. Su extracción se realiza mediante arrastre por vapor, hidrodestilación clásica, hidrodestilación asistida por microondas, extracción con fluidos supercríticos entre otros, sin embargo, su presencia en los tejidos vegetales generalmente es baja (Yancu & Sanderson, 2019). En los cítricos los aceites esenciales se encuentran en las cáscaras específicamente en el flavedo, este producto natural tiene gran valor económico debido a sus aplicaciones en la industria no alimentaria como cosmetología, fragancias y preparaciones farmacéuticas. Sumado a esto la extracción se hace de partes fácilmente recuperables de los residuos generados o que habitualmente son desechadas a nivel industrial, representando así una fuente potencial de aditivos naturales que generalmente son preferidos por los consumidores (Raspo *et al.*, 2020).

Por otra parte, los compuestos bioactivos están conformados por aquellos elementos alimentarios que influyen en los mecanismos fisiológicos y la actividad celular brindando efectos benévolos para la salud. Se encuentran presentes en pequeñas cantidades en diferentes partes de los productos vegetales (tallos, hojas, cáscaras, semillas), los más estudiados en los últimos años han sido los polifenoles vegetales (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). Estos compuestos son de gran importancia debido a sus propiedades funcionales, como los efectos antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos y antibacterianos (Giaconia *et al.*, 2020), las cáscaras de los cítricos contienen cantidades significativas de polifenoles y flavonoides. Por esta razón los residuos generados de estas frutas en los centros de abasto, son materias primas de fácil acceso, económicos y de un alto potencial en la obtención tanto de aceites esenciales como de compuestos bioactivos (Gómez-Mejía *et al.*, 2019).

Por lo tanto, en esta investigación se planteó aprovechar los residuos de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de San Juan de Pasto para la obtención de aceite esencial y compuestos bioactivos, productos de alto valor agregado y con aplicaciones en la industria cosmetológica, farmacéutica y alimentaria. Con base en lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación. ¿Cuál es el efecto de la relación (sólido:solvente), porcentaje de solvente y temperatura sobre la cantidad de compuestos bioactivos presentes en las cáscaras de naranja que previamente se han sometido a extracción de aceites esenciales mediante arrastre por vapor e hidrodestilación asistida por microondas?.

2. Justificación

En la actualidad, es de gran importancia la gestión adecuada de residuos sólidos que busque disminuir el impacto negativo que estos ejercen sobre el ambiente (suelo, agua, aire), convirtiéndose así en el mayor desafío para las autoridades de las pequeñas y grandes ciudades de los países en vía de desarrollo, situación que está asociada de forma directa con el aumento de la población y la rápida urbanización (Abdel-Shafy & Mansour, 2018). La plaza de mercado “El Potrerillo”, principal centro de abasto de la ciudad de Pasto, es el lugar de mayor distribución de productos agrícolas, por ende, de alta generación de residuos sólidos vegetales que afectan el medio ambiente puesto que no se cuenta con ningún tipo de tratamiento que permita aprovechar estos residuos (Matabajoy, 2018). La gran mayoría de los residuos generados en estos lugares se caracterizan por ser sólidos y orgánicos, según los expertos si estos se clasifican en el lugar de origen y se reciclan, se podría reducir en un 20 a 30 % las basuras que se tendrían que disponer en los rellenos sanitarios, entonces si se realiza un aprovechamiento de estos residuos se tendría un efecto directo sobre los volúmenes depositados en estos lugares (Gómez Estupiñán, 2016).

En la actualidad existe un incremento en la demanda de productos de origen natural, donde las frutas tienen gran importancia debido a su alto contenido de compuestos bioactivos y aceites esenciales. Esto ha despertado el interés por buscar estrategias que valoricen estos residuos de forma integral convirtiéndolos en productos con valor agregado. Algunas partes de las frutas como cáscaras y semillas que son recuperables de los residuos que se generan en las plazas de mercado contienen cantidades abundantes de componentes bioactivos que incluyen antioxidantes (polifenoles) y aceites esenciales (Mao *et al.*, 2019). En los cítricos los compuestos bioactivos se encuentran generalmente en la cascara (flavedo), la cual se puede recuperar de los residuos y mediante un proceso de limpieza y desinfección realizar la extracción de dichos

compuestos que se caracterizan por presentan beneficios para la salud (Chu *et al.*, 2017), de igual manera los aceites esenciales se caracterizan por ser concentrados de moléculas terpenoides y aromáticas, son altamente utilizados en perfumería, cosmetología, industria alimentaria y farmacéutica. La demanda de estos compuestos es cada vez mayor por su origen natural, sustituyendo a productos sintéticos (Himed *et al.*, 2019).

Por lo mencionado anteriormente, la presente investigación tiene como objetivo principal el aprovechamiento de los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo”, mediante la extracción secuencial a través de técnicas verdes de aceites esenciales y compuestos bioactivos, que se caracterizan por su alto valor agregado, lo que permitirá a futuro valorizar y aprovechar el residuo de mejor manera, contribuyendo así a mitigar el impacto que estos tienen sobre el ambiente.

3. Marco Teórico

3.1. Plazas de Mercado

Es el espacio urbano público, amplio, cubierto o descubierto en el cual se relacionan e interactúan productores, consumidores, mayoristas y vendedores, además se considera como centro de abastecimiento cultural e histórico vinculado a las actividades económicas de cada ciudad. Estos lugares son destinados a la compra y venta de productos agrícolas para satisfacer las necesidades de la comunidad y la región al por mayor y menor, de igual manera las plazas de mercado no solo son consideradas como establecimientos comerciales sino también como encuentro cultural del campo y la ciudad (Foyain *et al.*, 2018).

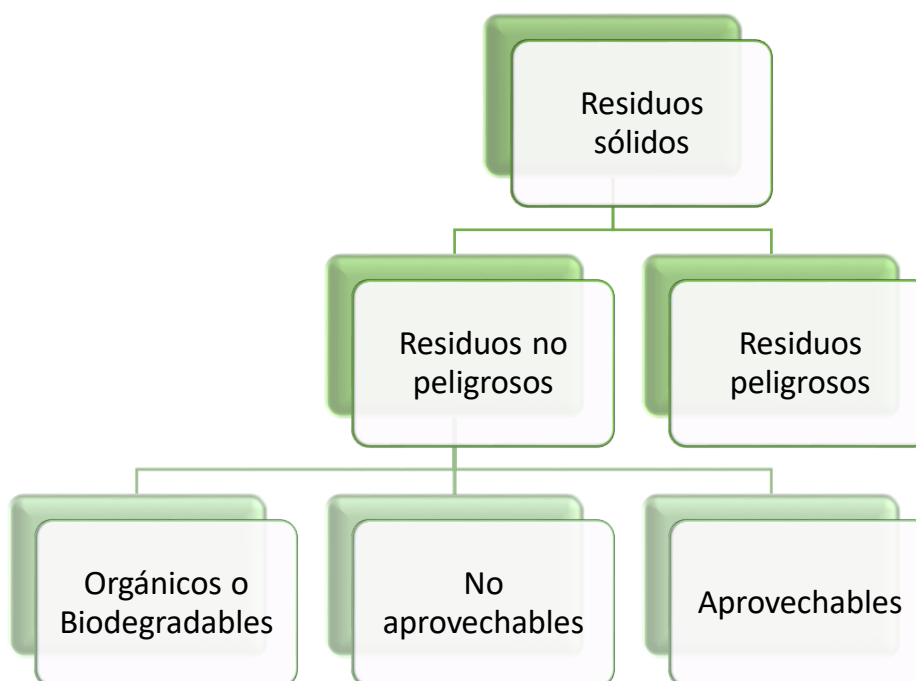
3.2. Residuos

Hace referencia a objetos, materiales, sustancias, elementos sólidos, semisólidos o líquidos que se abandonan, botan o rechazan después de haber sido utilizados en actividades comerciales, industriales y domésticas. Normalmente la mayor parte de la población los considera como “basuras” (algo inservible) que causan contaminación y daños al ambiente (Uriza, 2016).

Los residuos sólidos se pueden clasificar en varias categorías dependiendo de su composición y capacidad de ser reintegradas en otros productos obteniendo beneficios ambientales e industriales (Pinto & Suarez, 2016). Según la Norma Técnica Colombiana (GTC 24, 2009) del Instituto Colombiano de Normas Técnicas Certificadas (ICONTEC, 2009), se pueden clasificar de la siguiente manera (Figura 1).

Figura 1

Clasificación de residuos sólidos Según la Norma Técnica Colombiana GTC 24 del Instituto Colombiano de Normas Técnicas y certificadas (ICONTEC 2009).



3.2.1. Residuos Sólidos Orgánicos o Biodegradables

Los residuos generados en las plazas de mercado corresponden en su gran mayoría a residuos sólidos orgánicos o biodegradables, estos residuos son de alta generación puesto que más del 46% de los desechos que se producen a nivel mundial son de naturaleza orgánica (Pace *et al.*, 2018), provienen de restos de productos de origen orgánico como restos de comidas, frutas, hortalizas entre otros. Se caracterizan por tener la capacidad de desintegrarse o degradarse rápidamente convirtiéndose en otro tipo de materiales orgánico considerados relativamente inertes (González-Velandia *et al.*, 2016).

Los residuos sólidos orgánicos se clasifican de acuerdo con su origen (fuente de generación) y con su naturaleza y/o características físicas. Entre ellos se encuentran los residuos

sólidos de mercados que se caracterizan por proceder de centros de abasto y otros lugares de venta de productos alimentarios (productos agrícolas).

3.2.2. Valorización de residuos

Los residuos de cítricos corresponden aproximadamente un 50 % entre (cáscaras, semillas y membranas) (Santiago *et al.*, 2020). Actualmente el aprovechamiento de los residuos de cáscara de naranja no tienen mayor impacto en la sociedad, puesto que su destino final son los vertederos (Fazzino *et al.*, 2021), sin embargo, estos residuos ofrecen un alto potencial en la obtención de productos de valor agregado como químicos, compuestos bioactivos naturales, aceite esencial compuesto principalmente por limoneno (68 – 98 %), este monoterpeno lo hace muy atractivo en la industria alimentaria como conservante (Ozturk *et al.*, 2019). De igual manera las cáscaras de cítricos son ricas en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes benévolas para la salud (Ozturk *et al.*, 2018), estas situaciones hacen que los residuos de cítricos sean fuente favorable para su aprovechamiento y valorización.

3.3. Aspectos Generales de la Naranja (*Citrus sinensis*)

3.3.1. Origen y Variedad

La naranja es una fruta comestible obtenida del naranjo dulce perteneciente a la familia *rutaceae*, al género *citrus* y especie *sinensis*, de forma esférica con un diámetro aproximado de 6 a 10 cm, es originaria del suroriente de Asia, China y el archipiélago de Malayo. En América fue introducida durante la colonización española y portuguesa, existe gran variedad de naranjas con diferente sabor, tamaño y productividad, en Colombia las que más se cultivan son: sweety, salustiana y valenciana (Agudelo & Villada, 2018).

3.3.2. Condiciones Climáticas

Se caracteriza por ser una especie subtropical que no tolera temperaturas inferiores a 3 °C, siendo este un factor limitante para la producción puesto que necesita temperaturas cálidas para una correcta maduración. De igual manera las precipitaciones (1200 mm) y ambientes húmedos tanto en suelo y atmósfera son de gran importancia para una óptima producción (Agudelo & Villada, 2018).

3.3.3. Producción en Colombia

En Colombia las zonas productoras de Naranja (*Citrus sinensis*) están ubicadas entre (0 – 1600 msnm), precipitaciones (900 – 1200 mm, temperaturas de 23 - 34 °C y luminosidad mayor de 1900 h/año. La producción en Colombia para el primer trimestre del 2019 se ubicó en el tercer lugar con 283815 T/semestre correspondiente al 9,7 % del total de frutas, con un área plantada de 40322 ha y el área productiva de 31617 ha para un rendimiento de 8,98 T/ha*semestre. En Nariño se cultivan aproximadamente 1592 ha (Agudelo & Villada, 2018; DANE, 2020).

3.3.4. Anatomía de la Naranja

Las naranjas se caracterizan por tener tres capas bien diferenciada: flavedo o epicarpio (exocarpo), albedo (mesocarpo) y endocarpo. Entre el flavedo y el albedo representan aproximadamente un 50% del peso de fruta húmeda (Alvarado & Hernández, 2018). La naranja (*Citrus sinensis*) es una fruta rica en metabolitos secundarios con posible actividad biológica importante a nivel farmacéutico. Se caracteriza por la presencia de compuestos como carotenoides, flavonoides, cumarinas, ácidos grasos, compuestos volátiles, hidroxilamidas, vitaminas, carbohidratos, entre otros. Su contenido varía dependiendo de la parte del fruto, estado de maduración, variedad utilizada y condiciones de ambientales y de cultivo. Estos

compuestos son los responsables de las diferentes propiedades medicinales que se le atribuyen a esta fruta (Favela-Hernández *et al.*, 2016).

3.3.4.1. Flavedo o Epicarpio (Exocarpo).

Es la capa exterior de la Naranja, se caracteriza por ser una capa rica en cloroplastos, además, contiene sacos de aceite esencial y pigmentos. Los carotenoides se encargan de dar la coloración característica amarilla del fruto (Ulloa, 2012).

3.3.4.2. Albedo (Mesocarpo).

Esta capa presenta una coloración blanca de textura esponjosa rica en flavonoides y pectina. Constituye la parte mayoritaria de la corteza y es el eje central del fruto (Ulloa, 2012; Berrospi, 2019).

3.3.4.3. Endocarpo

Es la parte comestible de la fruta, formada por carpelos posicionados al rededor del eje central. Es rica en vitamina C (ácido ascórbico) y se encuentran los principales azúcares glucosa, fructosa y sacarosa (Berrospi, 2019).

3.4. Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son derivados agroindustriales no maderables, se obtienen en estado líquido mediante diferentes métodos de extracción. Se caracterizan por ser una mezcla de sustancias volátiles y poseer un olor particular e intenso que depende de la especie y parte de planta utilizada en la extracción (Stashenko, 2019). Estos aceites son sintetizados por las plantas con un fin ecológico como hormonas reguladoras y catalizadoras atrayentes de polinizadores dispersores de semillas y defensa contra plagas y depredadores. Sin embargo, por su composición química y características biológicas son importantes a nivel agroindustrial en

campos como la cosmetología, medicina, farmacéutica, industria alimentaria, entre otros (Miladys Esther Torrenegra *et al.*, 2019)

Los aceites esenciales contienen una compleja mezcla de compuestos químicos mayoritariamente los terpenos más volátiles, monoterpenos (limoneno, linalol, citronelol, geraniol), sesquiterpenos (farnesol, acetato de cedrilo, β -santalol), y compuestos aromáticos principalmente los derivados de fenilpropano como anetol, anisaldehído, apiol (Caballero & Rodriguez, 2014).

3.4.1. Extracción por Arrastre por Vapor (AV)

Normalmente se emplea para la extracción de aceites esenciales que se encuentran almacenados en glándulas, sacos, conductos o reservorios dentro de los vegetales. El rendimiento, pureza del aceite obtenido y tecnologías no sofisticadas hacen que este método sea muy utilizado a nivel industrial. Su fundamento consiste en la vaporización de cada uno de los componentes volátiles por medio de inyección directa de vapor de agua, finalmente el vapor es enfriado en un condensador para regresar a la forma líquida los dos productos inmiscibles (Caballero & Rodriguez, 2014).

3.4.2. Hidrodestilación Asistida por Microondas (MAHD)

Este método emplea radiación electromagnética de microondas para extraer el aceite de la muestra vegetal. La radiación hace que se aumente la presión y temperatura dentro de la muestra sólida de tal manera que la pared celular colapse y el solvente pueda disolver el compuesto de interés. Para ser consideradas radiación de microondas debe tener una longitud de onda entre 1 mm y 30 cm y una frecuencia de 100 MHz a 100 GHz (Anticono *et al.*, 2021).

3.5. Compuestos Bioactivos

Son compuestos naturales presentes en los vegetales que ayudan a mejorar la salud contribuyendo al buen funcionamiento del organismo, de igual manera previenen y combaten enfermedades, entre los más destacados se encuentran los compuestos fenólicos (flavonoides, antocianinas y taninos), ácidos orgánicos y vitaminas. Además, su consumo tiene beneficios como antioxidantes, ayudando al sistema inmune a prevenir enfermedades como la diabetes, cáncer y enfermedades del sistema vascular. Sin embargo, su exceso puede tener efecto citotóxico (Braga *et al.*, 2018).

3.5.1. Compuestos Fenólicos

Constituyen un amplio grupo de moléculas que se caracterizan por tener en su estructura un anillo aromático con al menos un sustituyente hidroxilo, una cadena lateral y dobles enlaces conjugados encargados de ejercer su acción antioxidante (Morales, 2011). Son sintetizados por las plantas como metabolitos secundarios ya sea de manera normal o como respuesta a las condiciones del medio (parásitos, cambios de temperatura, radiación entre otras) (Liu *et al.*, 2019). La cantidad en la que se encuentran depende de condiciones de cultivo, variedad, almacenamiento etc, su distribución no es uniforme a nivel celular, generalmente las capas exteriores contienen mayor cantidad que las partes internas. Las paredes celulares contienen compuestos fenólicos insolubles debido a que están enlazados a compuestos celulares encargados de dar resistencia mecánica a diferencia de los solubles que se encuentran en las vacuolas (Gómez, 2010).

3.5.1.1. Flavonoides.

Son una subclase de los polifenoles de mayor abundancia, importancia y mayor estudio en la actualidad, presentan gran número de propiedades biológicas entre las que destaca su

capacidad antioxidante. Su estructura consiste en dos anillos aromáticos unidos por tres átomos de carbono ($C_6 - C_3 - C_6$) formando así un heterociclo oxigenado (Peiró, 2015).

3.5.1.2. Compuestos Antioxidantes.

Un antioxidante es una sustancia conformada por un grupo de moléculas que en bajas concentraciones comparada con el sustrato oxidante, previene o retarda en gran medida las reacciones de oxidación, contrarrestando los efectos negativos causados por los radicales libres como enfermedades de diagnóstico complejo (Liu *et al.*, 2019). A nivel celular los daños por oxidación están asociados al deterioro de los tejidos afectando las sustancias lipídicas, proteínas y ácidos nucleicos causados principalmente por el oxígeno (Márquez *et al.*, 2014). Los antioxidantes se caracterizan por ser reductores, sin embargo, un reductor no siempre es un antioxidante. En los alimentos ayuda impedir o retardar la oxidación catalítica y en enranciamiento natural causado por la luz y el aire (Peiró, 2015)

3.5.2. Radical Libre

Son moléculas que tienen en su estructura uno o más electrones desapareados generados durante procesos oxidativos como la respiración donde se transfieren electrones, es decir, pérdida de cargas negativas. Se caracterizan por ser bastante reactivos puesto que captan un electrón de otras moléculas biológicamente estables para poder alcanzar su estabilidad electroquímica, una vez lograda, la molécula que perdió sus electrones se convierte en un nuevo radical libre, desencadenando así una reacción en cadena (Morales, 2011).

3.6. Extracción Asistida por Ultrasonido (UEA)

La UEA utiliza ondas con un rango de frecuencias que varía entre (20kHz a 10MHz), es una técnica moderna de extracción de diferentes compuestos de interés, en los últimos años ha despertado gran interés por ofrecer múltiples ventajas como: altos rendimientos, los productos

recuperados presentan daños mínimos a nivel estructural y molecular y reduce la cantidad de solvente (Babotă *et al.*, 2022)

La extracción asistida por ultrasonido se basa principalmente en la cavitación acústica que induce a una serie de compresiones y rarefacciones en las moléculas del solvente, provocando la formación de burbujas debido al cambio de presión y temperatura. Se han identificado distintos mecanismos involucrados en la UEA, entre ellas sobresalen la fragmentación consecuencia de las colisiones de las partículas y ondas ultrasónicas disminuyendo el tamaño de las partículas facilitando la transferencia de masa. La erosión ayuda a mejorar la accesibilidad del disolvente mediante la implosión de las burbujas sobre la superficie del material vegetal, la sonocapilaridad y sonoporación mejoran la penetración del líquido ocasionando modificaciones en la permeabilidad de la membrana celular, por último, el cizallamiento genera colapso de las burbujas en el fluido debido a las oscilaciones (Kumar *et al.*, 2021) (Medina, 2017).

3.6.1. Parámetros que Afectan la UEA

Las características del material vegetal (contenido de humedad y tamaño de partícula), solvente a utilizar son factores que se deben tener en cuenta al momento de la extracción, sin embargo, existen otros factores que influyen en la acción de este método, como la temperatura, potencia, tiempo de sonicación y relación sólido:solvente (Barrera, 2015).

3.6.1.1. Solvente.

La elección de un solvente apropiado es de gran importancia, puesto que su naturaleza determina la eficiencia en términos de solubilidad del analito y penetrabilidad en la muestra. La cavitación es favorecida con mayor facilidad en líquidos con baja viscosidad debido a que la intensidad ultrasónica supera fácilmente las fuerzas moleculares del líquido, además, al tener

baja viscosidad tiene menor densidad y al difusividad, permitiendo entrar mejor por los poros de la muestra vegetal (Barrera, 2015; Tomšik *et al.*, 2016).

3.6.1.2. Tiempo de Extracción.

Durante la UEA, la cavitación incrementa la transferencia de masa y la interacción entre los tejidos de la planta y el solvente, esto ocurre en dos etapas, la primera se denomina lavado donde ocurre la dilución de los compuestos solubles en la superficie de la matriz vegetal y en segundo lugar la transferencia de masa se realiza por difusión y procesos osmóticos (Şahin & Şamlı, 2013). Al incrementar el tiempo de extracción hace que el rendimiento sea igualmente mayor debido al aumento en el tiempo de contacto entre el soluto y solvente, sin embargo, si los tiempos son demasiado prolongados los productos de interés pueden sufrir daños en su estructura y por ende su calidad (Barrera, 2015).

3.6.1.3. Temperatura.

En la UEA, un incremento en la temperatura hasta un determinado límite aumenta el rendimiento de compuestos bioactivos, debido al efecto que ejerce en el soluto y solvente aumentando la desorción y solubilidad del soluto en el solvente, estos fenómenos generan una mayor difusión del disolvente en el material vegetal (Kumar *et al.*, 2021). El aumento de la temperatura puede provocar mejor solubilidad de los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en las cascaras de los cítricos, de igual manera también disminuye la viscosidad mejorando la velocidad de difusión, cuando la temperatura es ligeramente alta, mejora el rendimiento debido a la alteración de la integridad de la pared celular del material vegetal, por lo tanto, los metabolitos de interés emergen de la matriz (Poyraz *et al.*, 2021), de igual manera el exceso de temperatura puede promover la degradación (oxidación) de los compuestos fenólicos (Al-Dhabi *et al.*, 2017).

3.6.1.4. Relación sólido:solvente.

El efecto de la relación sólido:solvente, es un factor de gran importancia durante la transferencia de masa, ya que altos volúmenes de solvente ayudan a acelerar el proceso de difusión (Muñiz-Márquez *et al.*, 2013). De igual manera, la velocidad de disolución y difusión es alta a medida que aumenta la diferencia de concentración de soluto entre el disolvente y la matriz vegetal, aumentando así el proceso de extracción (Al-Dhabi *et al.*, 2017). En una relación alta, la intensidad ultrasónica impuesta sobre la solución es mayor provocando erosión, fragmentación y formación de poros, mejorando el rendimiento, sin embargo, si la relación es demasiado alta, provoca el efecto de cavitación mejorada ocasionando degradación de los solutos deseados (Prakash *et al.*, 2017)

3.6.1.5. Potencia.

Al aumentar la potencia de extracción aumenta la recuperación del producto, debido a que cuanto mayor es la amplitud de la onda de ultrasonido que se propaga en el medio las colisiones de las burbujas con las células son más violentas (mayor fuerza). Sin embargo, el incremento en la eficiencia no suele ser muy notorio puesto que solo una parte de la energía entra en el solvente de extracción (Barrera, 2015).

3.6.2. Diseño Central Compuesto (DCC)

Este diseño experimental tiene como finalidad encontrar máxima información de un proceso a partir de un número mínimo de experimentos, convirtiéndolo en una herramienta de gran importancia en el análisis de información de determinadas situaciones experimentales (Prakash *et al.*, 2017).

4. Marco Legal

Normatividad colombiana para las plazas de mercado (centros de abasto): A continuación, se relaciona la normatividad que rige a la administración de plazas de mercado y al manejo de residuos sólidos que se generan en estos lugares.

Constitución política colombiana: En el capítulo 3 “LOS DERECHOS COLECTIVOS Y DEL AMBIENTE”, en el artículo 79 hace mención al derecho que tienen las personas a gozar de un ambiente sano y el deber que tiene el Estado de proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las áreas de importancia ecológica y fomentar la educación ambiental. El artículo 80 hace referencia a la responsabilidad del Estado en el manejo adecuado de los recursos naturales, buscando su sustentabilidad conservación y restauración.

Ley 99 de 1993 expedida por el Congreso de la república: Mediante el cual se crea el ministerio del medio ambiente como organismo rector del medio ambiente, junto con el presidente de la república se encargarán de velar por el cuidado y desarrollo sostenible del medio ambiente para garantizar un ambiente sano. Se crea el Sistema Nacional Ambiental SINA que es el conjunto de normas, actividades, recursos, programas, e instituciones que permitan la puesta en marcha de principios ambientales de esta ley. En esta se abarcan temas relacionado con el manejo de residuos sólidos con el objetivo de regular actividades y su impacto en las condiciones generales del entorno natural, de igual manera estudia las emisiones, descargas, distribución, transporte y vertimiento de las sustancias al medio ambiente, limitando así los niveles máximos de contaminantes.

Ley 9 de 1979: Por la cual se dictan medidas sanitarias, mediante el cual se menciona que todos los lugares destinados al comercio de productos agrícolas, deben tener lugares adecuados para la recolección de los residuos, por ningún motivo se puede realizar en lugares al

campo abierto. Los recipientes destinados para la recolección de residuos deben mantenerse limpios evitando ser focos de insectos y malos olores, además, la permanencia de las basuras en los contenedores será lo más corto posible disminuyendo los efectos negativos al ambiente.

Decreto 1713 de 2002: En este decreto se reglamenta el manejo adecuado de los residuos sólidos en todas sus etapas; separación en la fuente, almacenamiento, tratamiento, recolección, transporte, aprovechamiento y disposición final, todos encaminados a disminuir los efectos negativos ocasionados al ambiente. Las plazas de mercado deben tener programas que reduzcan la heterogeneidad de los residuos sólidos facilitando las operaciones de manejo y aprovechamiento, además se debe contar con contenedores de recolección ubicados en puntos estratégicos.

Guía Técnica Colombiana (GTC 24:2009): Dentro del PGIRS se encuentra la separación en la fuente teniendo en cuenta el sector, tipo de residuo y color, la cual pretende que haya mejor calidad de los residuos optimizando el aprovechamiento y disposición final de los mismos, seguidamente se recomienda realizar una recolección selectiva de los residuos.

Guía Técnica Colombiana (GTC 86:2003): Guía para la implementación de la gestión integral de residuos –GIR-, donde se pretende no solo entregar los residuos a las empresas encargadas si no implementar etapas que busquen acciones necesarias para promover su aprovechamiento y tratamiento adecuado, para minimizar su generación e impactos al medio ambiente.

5. Antecedentes

Londoño *et al.* (2010), mencionan que las cascarras de cítricos normalmente desechadas contiene altos contenidos de flavonoides de gran interés, por tal razón utilizaron las cáscaras de lima Tahití (*Citrus latifolia*), naranja dulce (*Citrus sinensis*) y mandarina oneco (*Citrus reticulata*), que fueron secadas a 40°C y tamizadas a 0,2 mm. La obtención de hesperidina y otros flavonoides la realizaron mediante UEA a 60 KHz, la relación de masa de cascara y agua fue de 1:10. La obtención de flavonoides después de una optimización tuvo un rendimiento de $40,25 \pm 12,09$ mg de flavonoides por cada g de cáscara, para la naranja el contenido fenólico total fue de $66,36 \pm 0,75$ equivalente de ácido gálico por cada g de muestra.

Khan *et al.* (2010), mencionan que los residuos como cascarras y semillas son buena fuente de compuestos fenólicos que son usados como antioxidantes. Estos compuestos normalmente han sido extraídos por métodos convencionales, sin embargo, altas temperaturas causan su degradación. Técnicas como UEA se caracterizan por alta reproducibilidad, menor tiempo, fácil manipulación, bajo consumo de energía y baja temperatura del solvente. Los autores citados utilizaron residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), las condiciones de operación fueron: frecuencia de 25kHz, potencia máxima de 150 W, concentración de 0.25 g/ml durante 30 minutos. Como resultados obtuvieron un contenido de polifenoles de 275,8 mg de GAE / 100 g de muestra en peso fresco; para flavanonas fue es 70,3 mg de naringina y 205,2 mg de hesperidina / 100 g de muestra en peso fresco. El rendimiento de la extracción fue de 10,9%, estos resultados se confirmaron con las pruebas antioxidantes DPPH y ORAC.

Torrenegra *et al.* (2015), mencionan que los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas, que se caracterizan por ser fracciones líquidas volátiles, que se

encuentran en glándulas y vesículas de hojas, flores, semillas y corteza. En la extracción de aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*” compararon dos métodos en cuanto a eficiencia de extracción y composición química. Los autores realizaron la extracción mediante los métodos; hidrodestilación por arrastre con vapor de agua convencional (HD) y MAHD, trabajaron con 500 g de muestra troceada con tiempos para la HD de 4 horas y para MAHD de 1 hora. Los principales componentes encontrados en el aceite obtenido por MAHD fueron el timol (73.36%) y carvacrol (10.94%), mientras que mediante HD fueron acetato de eudesmol (22.44%) y acetato de isolongifolol (21.75%). Se concluye que la MAHD es una técnica rápida, eficiente y mucho más económica en comparación con la HD.

León Méndez *et al.* (2015), mencionan que la naranja es un fruto que no solo se aprovecha en la elaboración de jugos, sino también en la extracción de aceites esenciales a partir de las cáscaras. Los autores utilizaron dos métodos para la extracción de AE, hidrodestilación (HD) y MAHD del pericarpio de las naranjas. Una vez recolectadas las cáscaras las lavaron con agua destilada, trocearon y pesaron. Para la extracción de AE por HD, utilizaron 500 g de material vegetal que introdujeron en el balón de extracción con 500 mL de agua destilada, el tiempo de extracción fue de 3 horas. Para el MAHD operaron a una potencia del 70 %, y colocaron en el balón de extracción de 4 L 500 mL de agua destilada y 500 g del material vegetal por un tiempo de 3 horas. Dentro de los resultados más importantes que obtuvieron se encuentra el porcentaje de rendimiento con un $0,42 \pm 0,003$ para HD y $0,51 \pm 0,002$ para MWHD, el compuesto mayormente encontrado por los autores fue el limoneno con un porcentaje de abundancia relativa de (89,68 %) y (92,91 %) respectivamente, demostrando así que la MAHD es una técnica más rápido y eficiente en comparación con la HD.

Poyraz *et al.* (2021), estudiaron la valorización de biorresiduos de mandarina (*Citrus unshiu*) en la obtención de compuestos bioactivos para la suplementación alimentaria. Utilizaron el método de UEA, la optimización se realizó mediante metodología de superficie respuesta (RSM), la optimización de enjambre de partículas (PSO). Las condiciones óptimas encontradas fueron 90 min, 56 % de amplitud y 50 °C para RSM y 27 min, amplitud 50 y 52 °C para PSO. Se obtuvo 8,953 AG/g-cáscara y 5,253 catequinas/g-cáscara como TPC y TFC respectivamente y 6.977 GA/g-piel y 6.454 catequina/g-piel para PSO. RSM obtuvo los valores R más altos para TPC (0,9947) y TFC (0,9825). Estos resultados mostraron que la cáscara de *Citrus unshiu* contiene compuestos bioactivos muy ricos en fenoles con alto valor agregado.

6. Objetivos

6.1. Objetivo General

- Evaluar el aprovechamiento de los residuos de cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de San Juan de Pasto (Nariño) mediante la obtención secuencial de aceites esenciales y compuestos bioactivos.

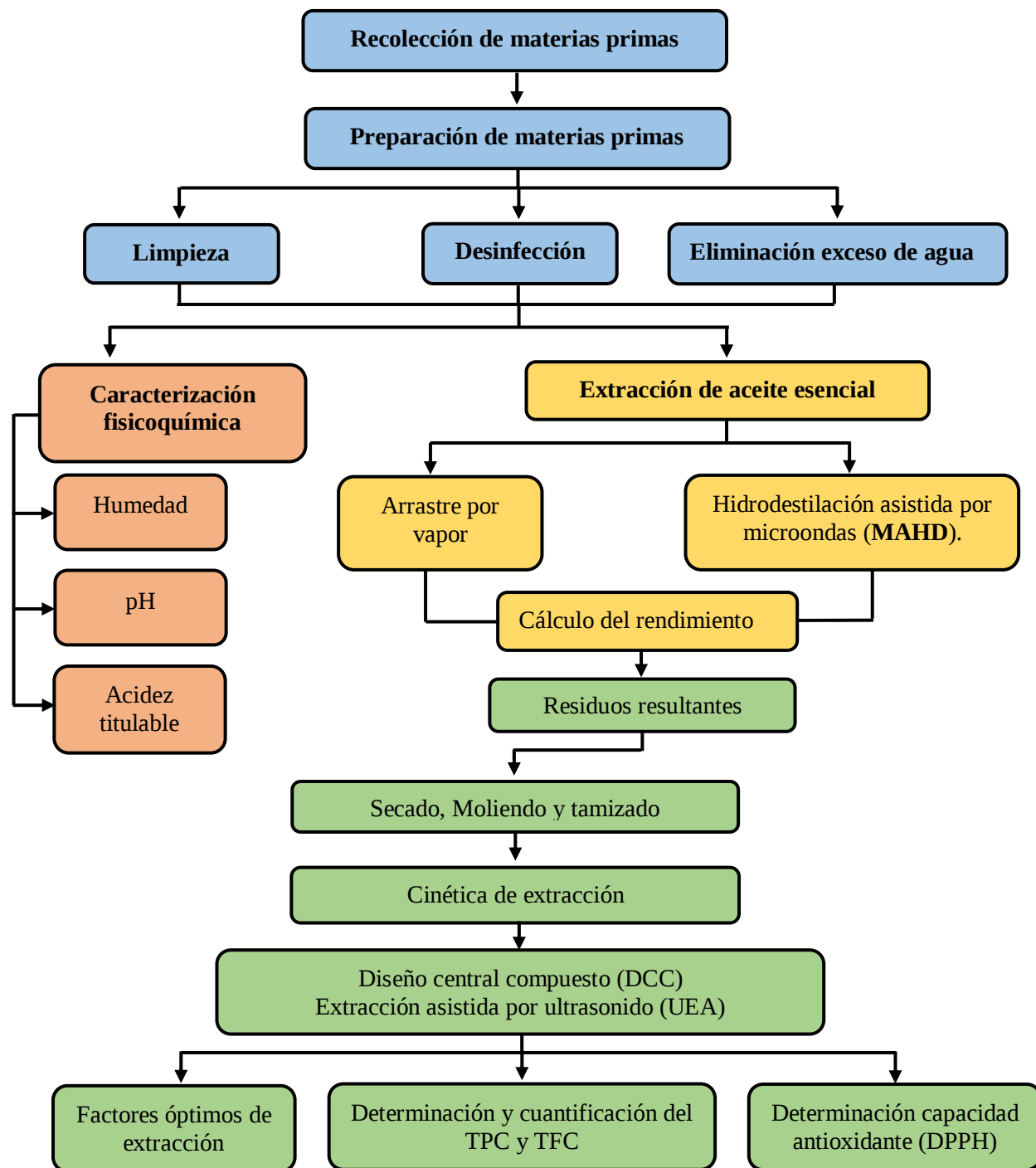
6.2. Objetivos Específicos

- Realizar una caracterización fisicoquímica de los residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado el “El Potrerillo” de la ciudad de Pasto.
- Determinar el rendimiento de extracción de aceite esencial mediante arrastre por vapor e hidrodestilación asistida por microondas de residuos de cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de San Juan de Pasto.
- Evaluar la influencia de los parámetros frecuencia, porcentaje de etanolvente, tiempo, relación sólido:solvente mediante la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles y flavonoides totales presentes en residuos de cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de San Juan de Pasto.

7. Metodología

Figura 2

Diagrama de flujo para la presente investigación.



Fuente: Esta investigación.

El proyecto de investigación se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Investigación en Conservación y Calidad de Alimentos perteneciente al Grupo de Apoyo a la Investigación y Desarrollo Agroalimentario (GAIDA) y Planta Piloto adscritos a la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño sede Torobajo de la Ciudad de San Juan de Pasto durante el periodo comprendido entre febrero – septiembre de 2021.

7.1. Caracterización Fisicoquímica de los Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*) Generados en la Plaza de Mercado el “El Potrerillo” de la Ciudad de Pasto.

7.1.1. Pruebas Fisicoquímicas

Los residuos de naranja (*Citrus sinensis*) fueron recolectados en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de Pasto, los cuales se seleccionaron teniendo en cuenta características adecuadas de textura (no presentar hendiduras o magulladuras), libre de pudrición y una coloración amarilla similar en todos los frutos, posteriormente se retiró la pulpa y parte del albedo, seguidamente se lavó y desinfectó con solución de hipoclorito de sodio 100 ppm por 5 min en inmersión, a continuación se escurrieron a temperatura ambiente para eliminar el exceso de agua. Finalmente, las cáscaras se trituraron en un procesador de alimentos hasta obtener un extracto crudo, el cual se filtró para posteriormente determinar el pH y acidez titulable.

7.1.1.1. pH.

La determinación de pH de las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) se realizó acorde a la NTC 4592 productos de frutas y verduras determinación de pH (ICONTEC, 1999a) (Anexo 1). En esta norma se establece el método del potenciómetro, utilizando la diferencia del potencial entre dos electrodos que se encuentran sumergidos en el líquido que se quiere analizar. El extracto filtrado se agito para tener una sustancia homogénea y se procedió a realiza la medición de pH con el potenciómetro (HANNA, edge), las mediciones se realizaron por triplicado.

7.1.1.2. Determinación de Acidez.

La determinación de acidez de las cascaras de naranja (*Citrus sinensis*), se realizó mediante el método potenciométrico según lo establecido en la NTC 4623 productos de frutas y verduras. determinación de la acidez titulable (ICONTEC, 1999b) (Anexo 1). Con una pipeta se tomó una muestra de 25 ml, posteriormente se adiciono con la bureta electrónica (Titrette) hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N hasta alcanzar una lectura de pH de $7,0 \pm 0,2$ y luego lentamente hasta un pH de $8,1 \pm 0,2$. Una vez se alcanzó este valor, se determinó la cantidad volumétrica de hidróxido de sodio gastado en la titulación, estas mediciones se realizaron por triplicado.

Una vez obtenidos los resultados se realizaron los cálculos de acidez teniendo en cuenta la ecuación 1.

$$AC = \frac{0,064 \, VN}{M} * 100$$

Ecuación 1

Donde:

AC: Acidez porcentual

V: Volumen de NaOH (mL) gastado en la titulación.

N: Normalidad de la solución de NaOH (0,1 mol/L).

M: Peso en gramos de 25mL de la muestra.

0,064: Equivalente de ácido cítrico.

7.1.1.3. Determinación de Humedad.

La determinación de humedad de las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), se realizó acorde a la AOAC 925.10. (Association of Analytical Communities, 2015) y las modificaciones realizadas por Bustamante *et al.*, (2016). Se lavó, seco y pesó en la balanza de marca (ViBRA) aproximadamente 5,00 g de cáscaras, posteriormente se llevó a la mufla a una temperatura de 105 °C. Trascorridas 2 horas la muestra se retiró del horno y se enfrió en la campana de desecación por 5 min, finalmente se registró el valor de peso y se llevó nuevamente a la mufla. Esta técnica se repitió hasta alcanzar un peso constante con diferencia de 0,02 g, este procedimiento se realizó por triplicado.

El porcentaje de humedad en las cáscaras de naranja se calculó teniendo en cuenta la ecuación 2.

$$Phum = \frac{(M - m)}{M} * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

Phum: Porcentaje de humedad

M: Peso inicial de la muestra (g).

m: Peso del producto seco (g).

7.2. Determinación del Rendimiento de Extracción de Aceite Esencial Mediante Arrastre por Vapor e Hidrodestilación Asistida por Microondas de Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*)

Los residuos de naranja (*Citrus sinensis*) se recolectaron en la plaza de mercado “El Potrerillo” de la ciudad de Pasto, se transportaron a Planta Piloto donde se separó la pulpa y parte del albedo para obtener el flavedo del fruto en mención, posteriormente se desinfectaron por

inmersión en una solución de hipoclorito de sodio 100 ppm por 5 minutos. Finalmente se dejaron secar y se trocearon para la extracción de aceite esencial. Cabe mencionar que la cantidad de residuos recolectados por día para la extracción mediante AV fue suficiente para 1 o 2 corridas, a diferencia de la MAHD donde los residuos recolectados por día alcanzaron para 5 a 6 corridas experimentales. Una vez seleccionada la técnica de mayor rendimiento se procedió a repetirla hasta tener la cantidad suficiente de cáscaras que permitieran la obtención de residuos secos para la totalidad de los ensayos correspondientes a la extracción de compuesto bioactivos mediante UEA.

La extracción y comparación del porcentaje de rendimiento (DW) de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) se llevó a cabo por dos metodologías que se mencionan a continuación.

7.2.1. Arrastre por Vapor (AV)

Para la elaboración del montaje se utilizaron diferentes materiales (Tabla 1), en el cual se llevó a cabo la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) mediante AV.

Tabla 1

Materiales y equipos utilizados para la extracción de aceite esencial mediante arrastre por vapor.

Cantidad	Materiales y equipos	Descripción
1	Autoclave.	Marca JALL AMERICAN modelo NO.75X
1	Condensadores.	Recto largo más acople en terminación en L, de bolas y mediano más acople NS 29/32.
2	Corchos.	En goma horadado.
4	Pinzas para balón.	
1	Embudo de decantación.	LABOR THERM, Made in GDR.
1	Vaso florentino.	
1	Recipiente para enfriar el agua para condensar.	En metal con tres divisiones perforadas para mantener nivel constante.
1	Bomba para recircular el agua.	Con conexiones de entrada y salida

7.2.1.1. Descripción del Montaje de AV.

El montaje de AV (Figura 3) se organizó de la siguiente manera. La autoclave provista en su interior de una resistencia que calienta el agua hasta el punto de ebullición y empezar a generar vapor. En la técnica de AV el material vegetal no debe estar en contacto directo con el agua, para evitar esta situación se instaló un marco metálico y sobre este una lámina de aluminio perforada para permitir el paso del vapor, en seguida se colocó un cilindro de lino para evitar que las cáscaras estén en contacto con la pared de la autoclave evitando el calentamiento por conducción. Dentro del cilindro se adecuaron 4 bandejas de malla metálica para colocar el material vegetal y así mejorar el contacto con el vapor **(A)**.

En la tapa de la autoclave se encuentran la válvula de escape que siempre se mantuvo cerrada y sobre la válvula de seguridad se adaptó una manguera de látex de 35 cm de longitud, se selló herméticamente con silicona resistente al calor para evitar las pérdidas de vapor **(B)**. Esta se unió a una conexión de aluminio que permitió dividir el flujo de vapor y ser conducido a los dos condensadores, los cuales se sujetaron con pinzas para balón unidas a soportes que los mantenían firmes **(C)**. El condensador de bolas se unió al embudo de decantación donde se recibió el condensado (agua y aceite) **(D)**, los condensadores mediano y largo se unieron mediante un acople NS 29/32 y conectaron al vaso florentino con un acople en terminación en L **(E)**.

Para la refrigeración se colocó hielo en el recipiente que contenía el agua, con la ayuda de una bomba se inyectó el agua fría al condensador de bolas y después al acople de condensadores regresando nuevamente al recipiente permitiendo así condensar el vapor de manera eficiente **(F)**.

Figura 3

*Montaje para la extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) mediante AV.*



Nota. (A) Autoclave, (B) conexión de manguera con válvula de escape, (C) división del flujo a los dos condensadores, (D) condensador de bolas y embudo de decantación, (E) unión de condensadores mediano y largo y vaso florentino y (F) contenedor de agua fría.

7.2.1.2. Metodología Empleada para la Extracción Mediante Arrastre por Vapor.

Las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) fueron colectadas en los diferentes puntos dedicados a la comercialización y distribución de este fruto que por pequeños daños (mecánicos, cortes, hendiduras) ya no se consideraban aptos para la venta. La colecta se realizó con un día de anterioridad debido a que el alto contenido de humedad las hace susceptibles a la contaminación

microbiana y posterior degradación, lo que puede transformar el D-limoneno presente en el aceite en α -terpineol disminuyendo su calidad puesto que este monoterpene no oxigenado constituye un (90 – 95 %) en el aceite de cáscaras de naranja (Sharma *et al.*, 2017). Las cáscaras se adecuaron retirando la pulpa y parte del albedo para su limpieza y desinfección con una solución de hipoclorito de sodio 100 ppm por inmersión, se dejaron reposar en condiciones ambientales por 45 minutos para eliminar el exceso de agua para su cortado y picado en tamaños de aproximadamente 2 cm² (Pérez, 2019). Posteriormente se adicionó a la autoclave 7 L de agua y se colocó las cáscaras de manera uniforme sobre las bandejas dispuestas en el cilindro de lino (Arias Gallego, 2019). A continuación, se tapó herméticamente y se encendió la autoclave verificando que la válvula de escape estuviera cerrada para evitar fugas de vapor.

Transcurridos 40 minutos se empezó a generar vapor, para lo cual fue necesario recircular agua fría por los condensadores, la recolección del condensado se hizo en un embudo de decantación y vaso florentino. La recuperación del aceite se realizó por diferencia de densidad dejando reposar 1 hora para una mejor separación de fases (aceite y agua), el aceite se envasó en frascos ámbar para preservar su composición (Briones-Sornoza & Guerrero-Intriago, 2019), finalmente se pesó y calculó el rendimiento. Todas las corridas experimentales se realizaron durante 120 minutos (2 horas), tiempos superiores provocaron quemado de las cáscaras. El sistema se dejó enfriar durante 40 minutos, para retirar las cáscaras que se llevaron a un mesón para su enfriamiento. Igual procedimiento se realizó con las diferentes cantidades de masa utilizada (6000, 4500, 3500, 3000 y 2500 g). Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado .

7.2.2. Hidrodestilación Asistida por Microondas (MAHD)

Los materiales utilizados para preparar el montaje para MAHD (Tabla 2), se acoplaron de tal manera que permita realizar la extracción de aceite de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*).

Tabla 2

Materiales utilizados para la extracción de aceite esencial mediante MAHD.

Cantidad	Materiales y equipos	Descripción
1	Horno microondas.	Marca Electrolux, modelo EMX171D1PW, 17 L
1	Balón fondo plano	NS 29/32 cuello largo esmerilado con capacidad de 1 L.
1	Alargaderas.	29/32 – 19/26, 19/26 – 14/23, 14/23 – 29/32 esmerilados.
1	Columna de destilación.	14/23 entrada y salida esmerilada
1	condensador recto	29/32 más acople en terminación en L.
1	Chiller	Marca TYPE CCA-1111, serie N°60705529.

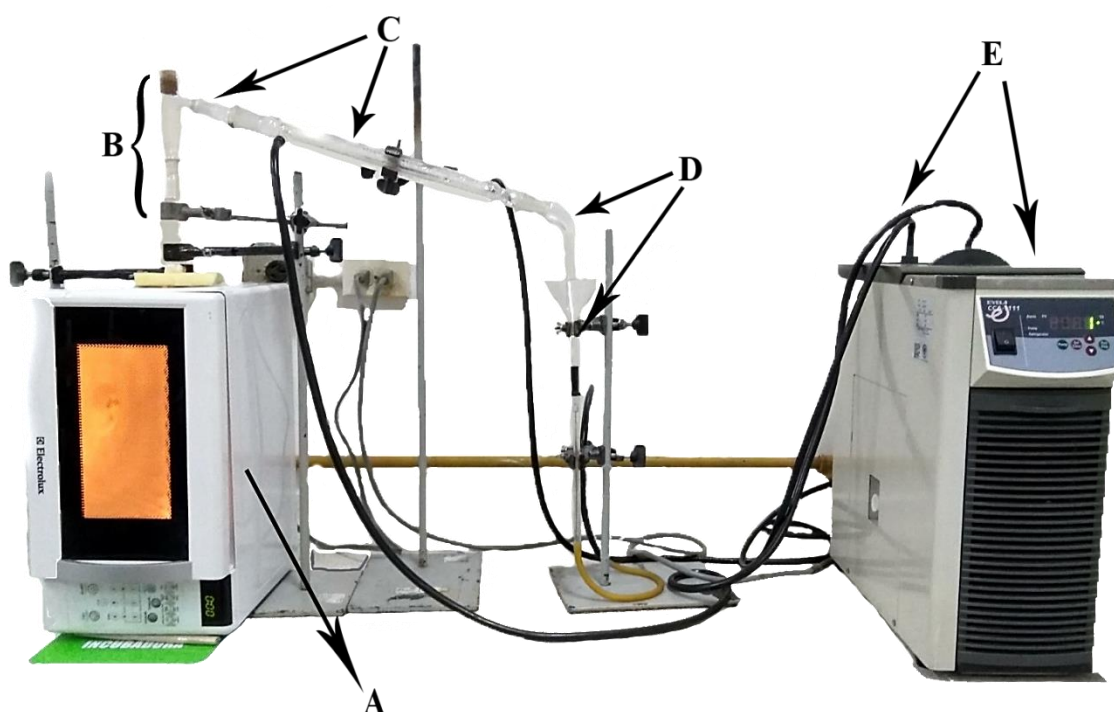
7.2.2.1. Descripción del Montaje (MAHD).

Para la MAHD (Figura 4) se utilizó un horno microondas domestico Electrolux, modelo (EMX171D1PW), potencia máxima de 700W, frecuencia de 2450 MHz, perforado en el lado lateral izquierdo. Dentro del horno se colocó un balón de vidrio pirex de 1 L, permitiendo el paso del cuello por la perforación sobresaliendo 5 cm **(A)**. La parte superior esmerilada del balón se acoplo a las alargaderas 29/32 – 19/26 y 19/26 – 14/23 y estas a su vez a la alargadera o columna de destilación 14/23 **(B)**, posteriormente la alargadera 14/23 – 29/32 se unió con el condensador recto largo conectado a un acople en terminación en L **(C)**. Para la recolección del condensado de utilizó una pipeta conectada en su parte superior al acople en terminación en L y en su parte inferior a una manguera de látex, esta se llevó a una altura fija para mantener el nivel del

condensado en la pipeta siempre constante disminuyendo así las pérdidas de aceite en las paredes (D). Para la refrigeración se utilizó un chiller marca (TYPE CCA-1111 serie N°60705529) con recirculación de agua fría, el cual se acopló al condensador (E).

Figura 4

Montaje de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (Citrus sinensis) mediante MAHD.



Nota. (A) Horno microondas, (B) Acople de alargaderas y columna de destilación, (C) Alargadera y condensador recto con terminación en L, (D) Embudo y pipeta de recolección y (E) chiller marca TYPE CCA-1111.

7.2.2.2. Metodología Empleada Para la Extracción Mediante (MADH).

La extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) se realizó acorde a la metodología descrita por (Qadariyah *et al.*, 2017) con algunas modificaciones. Una vez

preparado el montaje se colocó en el balón 70 g del material vegetal previamente desinfectado y cortadas en trozos de aproximadamente 2 cm², a continuación, se adicionó 140 mL de agua destilada relación sólido:líquido (1:2 g/mL) y se ubicó en el horno microondas, mediante una pinza se sujetó desde la parte exterior para ser acoplado a las alargaderas y condensador. Para la refrigeración se encendió el chiller y se programó a una temperatura de 4 ± 1 °C. Una vez se generó vapor, se condensó y recuperó en la columna de vidrio donde se formaron dos fases (aceite y agua). La recuperación del aceite se realizó con una micropipeta (Gómez *et al.*, 2016), posteriormente se dejó reposar en posición vertical para que por diferencia de densidad se separara adecuadamente el aceite del agua y poder así desechar el agua con mayor facilidad, finalmente se pesó y calculó el rendimiento. Todas las corridas se realizaron en 4 ciclos de 5 min dejando reposar el equipo 1 min, para finalizar la extracción se observó que la totalidad del solvente se haya evaporado, tiempos superiores hicieron que las cáscaras se quemaran convirtiéndolas en no aptas para la recuperación de compuestos bioactivos, igual procedimiento se realizó con la relación 1:3 g:mL (210 mL de agua). Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado.

7.2.3. Cálculo del Rendimiento de Extracción

Para calcular el rendimiento de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) se realizó mediante la Ecuación 3 como lo reporta; (Brahmi *et al.*, 2021; Cordova *et al.*, 2020; León *et al.*, 2015). El rendimiento en aceite esencial se define como la relación entre el peso del aceite extraído y el peso de la biomasa vegetal en seco y se expresa en porcentaje (%) (Brahmi *et al.*, 2021).

$$REA = \frac{W_{EA}}{W_{MV}} * 100$$

Ecuación 3

Donde:

REA: Rendimiento porcentual.

W_{EA} : Peso del aceite esencial obtenido (g).

W_{MV} : Peso del material vegetal fresco o seco (g).

Una vez obtenido el porcentaje de rendimiento por AV y MAHD se procedió a realizar un análisis estadístico mediante un análisis de varianza y con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95% para cada método de extracción y su posterior comparación. Una vez se determinó cuál de las dos técnicas ofrece un mayor rendimiento se procedió a replicar las condiciones hasta tener una cantidad de cáscaras suficiente para las siguientes etapas.

7.3. Evaluación de la Influencia de los Parámetros de la Extracción Asistida por Ultrasonido en la obtención de Polifenoles y Flavonoides Totales Presentes en Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*).

7.3.1. Obtención de Compuestos Bioactivos (TPC y TFC) Mediante EUA

7.3.1.1. Obtención de Residuos Secos de Cáscara de Naranja.

Las cáscaras resultantes del método del método que ofreció mayor rendimiento de extracción de aceite esencial se colocaron de manera uniforme (sin formar capas) en las bandejas del secador, se programó a una temperatura de $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$ por un tiempo de 48 horas hasta alcanzar una humedad de aproximadamente 10 % en base húmeda. Una vez secas se redujeron de tamaño utilizando un molino de la marca (KitchenAid, modelo BCG1110B), posteriormente se tamizó para obtener un tamaño de partícula uniforme en las mallas N° 40, 100 (Nishad *et al.*,

2019) en la tamizadora (PS-35 serie 1182) de Planta Piloto, las partículas utilizadas fueron las de la malla N°100 (125 μm). El tamizado se recolectó en bolsas ziploc cada una rotulada con el nombre del residuo y el número de malla, finalmente se almacenó en condiciones libres de luz y humedad. El secado del material vegetal además de evitar la degradación bacteriana, facilita y mejora el rendimiento debido al aumento de la porosidad y la velocidad de difusión del solvente.

7.3.1.2. Determinación del TPC (Método Colorimétrico de Folin-Ciocalteu).

En un tubo de ensayo se tomó 100 μL de la muestra (sobrenadante resultante de la centrifugación a 10000 rpm durante 15 min y 20 °C de la mezcla residuos secos y solvente) se mezclaron con 7,9 mL de agua destilada, posteriormente se añadió 500 μL del reactivo Folin-Ciocalteu y 1,5 mL de la solución saturada de carbonato de sodio (200 g/L). La mezcla se agitó en un vortex (Sci Logex MX-5) y se dejó en incubación por un periodo de 2 h protegido de la luz, finalmente, se determinó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (MAPADA P4), equipado con un soporte multicelda de 4 posiciones (Galván D'Alessandro *et al.*, 2013; Koşar *et al.*, 2005). Cada medición se realizó por triplicado.

7.3.1.3. Determinación del TFC (Método Colorimétrico Cloruro de Aluminio).

Se siguió la metodología propuesta por Aliakbarian *et al.* (2012); Yang *et al.* (2009). En un tubo de ensayo se tomó 250 μL de la muestra (sobrenadante resultante de la centrifugación a 10000 rpm durante 15 min y 20 °C de la mezcla residuos secos y solvente) se mezclaron con 1,25 mL de agua destilada, luego se añadió 75 μL de nitrito de sodio al 5 % (p/p) y se agitó en vortex. Pasados 5 min se adicionó 150 μL de cloruro de aluminio al 10 % (p/p), se agitó y después de 6 min se agregó 500 μL de hidróxido de sodio 1M, a continuación, se completó con 775 μL de agua ultrapura y se agitó. Finalmente se determinó la absorbancia a 510 nm, cada medición se realizó por triplicado.

7.3.1.4. Curva de Calibración de Polifenoles.

Se empleó como patrón ácido gálico (GAE), el cual se diluyó en etano puro a una concentración inicial de 1000 mg/L (solución madre). 50 ml de la solución madre se prepararon diluyendo 50 mg de GAE en 50 mL de etanol, posteriormente se realizaron diluciones 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 80 mg/L. Finalmente se empleó la metodología de determinación del TPC (Método Colorimétrico de Folin-Ciocalteu).

7.3.1.5. Curva de Calibración Flavonoides.

Se empleó como patrón catequina (CE), se diluyó en agua destilada a una concentración inicial de 20 mg/L (solución madre). 50 ml de la solución madre se prepararon diluyendo 1 mg de CE sólida en 50 mL de agua destilada, posteriormente se realizaron diluciones 0,07, 0,15, 0,3, 0,7, 1,2, 2,5, 5, 10 y 15 mg/L. Finalmente se empleó la metodología de determinación de TFC (Método Colorimétrico Cloruro de Aluminio).

7.3.1.6. Determinación de la Actividad Antioxidante (Método DPPH).

Para el ensayo DPPH se siguió la metodología propuesta por Galván D'Alessandro *et al.*, (2013); Singh *et al.*, (2017). En una celda de espectrofotómetro se mezcló 50 µL de la muestra (sobrenadante resultante de la centrifugación) con 1950 µL de una solución en metanol de DPPH radical (100 µM), posteriormente se agitó y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 30 min. La medición de la absorbancia se realizó a 517 nm en el espectrofotómetro y se calculó el porcentaje de inhibición mediante la Ecuación 4.

$$IRD = \frac{(A_{t0} - A_{tf})}{A_{t0}} * 100$$

Ecuación 4

Dónde:

IRD: Porcentaje de inhibición DPPH.

A_{t0} : Absorbancia inicial de la solución de (Metanol 50 mL + Radical DPPH 1950 μ L).

A_{tf} : Absorbancia de la muestra (Extracto 50 μ L + Radical DPPH 1950 μ L).

7.3.1.7. Determinación de la Actividad Antioxidante (Método ABTS)

Para el ensayo se siguió la metodología de Re *et al.* (1999); Rivero-Pérez *et al.* (2008) se tomó 980 μ L de solución ABTS y 20 μ L de la muestra (si es necesario se realiza una dilución de 1:50 en agua). Se realizó la medición del valor de absorbancia a 734 nm después de 15 minutos de reacción. La actividad antioxidante de la muestra para de reducir el radical ABTS se calculó empleando la Ecuación 5.

$$IRA = \frac{(A_{t0} - A_{tf})}{A_{t0}} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Dónde:

IRA: Porcentaje de inhibición ABTS.

A_{t0} : Absorbancia inicial de la solución (Metanol 20 μ L + Radical ABTS 980 μ L).

A_{tf} : Absorbancia de la muestra (Extracto 20 μ L + Radical ABTS 980 μ L).

Como control espectrofotométrico se empleó 1000 μ L de etanol absoluto.

7.3.1.8. Cinética de Extracción.

Para realizar la cinética de extracción se siguió el protocolo de Khan *et al.*, (2010); Khemakhem *et al.*, (2017), con algunas modificaciones. Se pesó en un beaker 5 g de residuos secos de naranja en la balanza (OHAUS), se adicionó 200 mL del solvente en relación 50:50 etanol agua (% v/v), posteriormente se sometió a UEA en un equipo (Elmasonic P120 H, Serie-

Nr: S1000028036) con frecuencias de operación 37 y 80 KHz y potencia máxima de 100 W. La extracción tuvo una duración de 90 minutos a 40°C, se tomaron muestras de 5 mL durante los tiempos de 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 90 minutos las cuales se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 min y 20 °C, finalmente se utilizó el sobrenadante para la cuantificación del TPC y TFC mediante las metodologías mencionadas anteriormente, este proceso se realizó con cada una de las frecuencias por separado. Para determinar el tiempo y frecuencia con los que se obtiene mejores resultados de extracción de TPC y TFC se realizó un análisis estadístico mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

7.3.2. Diseño Experimental Central Compuesto (DCC) de Superficie de Respuesta (SR)

El análisis de los datos experimentales se realizó con el software estadístico Design Expert 11.1.2.0. Para ello se empleó un análisis de regresión múltiple evaluando los coeficientes de regresión de términos (lineal, cuadrático e interacción). La revisión del estado del arte permitió evaluar el efecto de los parámetros establecidos en los siguientes rangos: temperatura (25 – 55 °C), relación sólido:solvente (1:20 – 1:60 g/mL) y solvente etanolico (30 - 70 %) sobre las variables de respuesta TPC y TFC presentes en los residuos secos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*). Este análisis se realizó mediante un diseño central compuesto (DCC), (Metodología Superficie Respuesta), con 4 puntos centrales, puntos estrellas y axiales, los valores codificados para las variables independientes fueron de (-1, 0 y +1), los puntos estrella se ubicaron a $\pm 1,682$ del punto central (Tabla 3) (Al-Dhabi *et al.*, 2017; Prakash *et al.*, 2017).

Tabla 3

Diseño experimental para la extracción de TPC y TFC de la cáscara de naranja (Citrus sinensis) mediante UEA.

Factores	Niveles				
	-1,682	-1	0	1	+1,682
A: Solvente (% V/V)	1:16,364	30	40	70	1:83,636
B: Relación (g:mL)	1:6,364	20	40	60	1:73,636
C: Temperatura (°C)	14,77	25	40	55	65,23

Para determinar el TPC y TFC mediante UEA se realizaron todos los ensayos por triplicado. Los resultados se ajustaron a un polinomio de segundo orden en su forma general (Ecuación 6) teniendo en cuenta los términos cuadráticos, lineales y sus interacciones, determinando así la correlación entre las variables independientes y las respuestas (Al-Dhabi *et al.*, 2017; Prakash Maran *et al.*, 2013).

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \sum_i \sum_{<j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j + e_j$$

Ecuación 6

Dónde:

Y: Es la variable de respuesta.

X_i y X_j : Son las variables independientes (factores).

β₀ : Coeficiente de intercepción del modelo.

β_j, β_{jj} y β_{ij} : Son coeficientes de interacción (lineal, cuadrático y de interacción).

7.3.3. Optimización y Validación de las Condiciones Óptimas

Para determinar las condiciones óptimas de las variables involucradas en UEA de residuos secos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), las condiciones del proceso se sometieron a un análisis de respuesta múltiple, a través de la metodología de función de deseabilidad (cercana o igual a 1) (Maran & Priya, 2014). Esta técnica de optimización numérica permitió encontrar niveles óptimos de los factores temperatura, porcentaje de solvente y relación sólido:solvente que maximizar simultáneamente el TPC y TFC (Prakash *et al.*, 2017).

Con las condiciones óptimas se realizó nuevamente la extracción de bioactivos que permita comparar los valores predichos con los experimentales y estimar el porcentaje de error.

7.3.4. Determinación de la concentración efectiva EC50.

Inicialmente se registró el peso del balón del rotaevaporador vacío, para ello se retiró la humedad del balón en un horno a una temperatura de 100°C durante una hora, posteriormente se enfrió y se registró peso estable. A continuación, se adicionó el extracto previamente centrifugado y filtrado, el cual se sometió a evaporación a 45 °C a presión reducida en un rotaevaporador giratorio (DLAB). Finalizado lo anterior, se registró el peso del balón con la muestra seca y se estimó mediante diferencia de peso la cantidad de extracto seco (g). A partir de este, se preparó una solución extrato seco:solvente con una concentración de 1 mg/mL en el solvente correspondiente. Finalmente, se realizó una prueba de actividad antioxidante mediante el método de DPPH, con la finalidad de determinar la concentración efectiva EC50 (Reynertson *et al.*, 2005).

8. Resultados y Discusión

8.1. Caracterización Físicoquímica de los Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*) Generados en la Plaza de Mercado el “El Potrerillo” de la Ciudad de Pasto.

8.1.1. Determinación de pH, Porcentaje de Acidez Titulable y Porcentaje de humedad

Los resultados de las pruebas físicoquímicas de los residuos de cáscaras de naranja se reportan en la (Tabla 4).

Tabla 4

Propiedades físicoquímicas de los residuos de cáscara de naranja (Citrus sinensis).

pH	CV (%)	Acidez titulable		CV (%)	% Humedad	CV (%)
		% de acidez	(g de ácido cítrico / L)			
4,30 ± 0,11	2,44	0,187 ± 0,013	1,871 ± 0,131	6,983	75,503 ± 1,196	1,665

Nota. (CV) Coeficiente de variación.

El pH, porcentaje de acidez y de humedad de los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) recolectados en la plaza de mercado “El Potrerillo” se reportan en la (Tabla 4). Según Pan *et al.* (2010) el coeficiente de variación (CV) representa la dispersión de los datos, como regla general se tiene que su valor no debe ser superior al 10 %, valores superiores reflejan alta variación en el valor medio de las mediciones, con lo cual no desarrollaría satisfactoriamente un modelo de respuesta adecuado en la experimentación. En el presente estudio se reporta un CV inferior al 10 %, indicando la poca variación en las mediciones.

Martínez Girón *et al.* (2015), evaluaron las propiedades físicoquímicas de naranja en fresco, como resultado obtuvieron un pH de $3,97 \pm 0,14$ y un porcentaje de humedad de $71,52 \pm 0,30$, de igual manera Falla y Sánchez, (2019) caracterizaron las cáscaras de naranja reportando valores de pH $3,05 \pm 0,01$, porcentaje de acidez de 0,11 y porcentaje de humedad de $71 \pm 0,01$,

valores inferiores a los encontrados en esta investigación. Ulloa, (2012) caracterizó frutos cítricos (naranja) colombianos y ecuatorianos, encontrando valores de pH para el flavedo de 4,47 y 4,78 respectivamente. Los autores en mención atribuyen estas diferencias principalmente a las condiciones ambientales y de cultivo lo cual podría explicar las diferencias con los resultados encontrados en la presente investigación. Sin embargo, el pH muestra poca diferencia con lo reportado en literatura, esta situación podría explicarse por la presencia de un sistema de autorregulación de pH como resultado del efecto amortiguador o buffering del ácido cítrico (Aguirre *et al.*, 2006), este ácido alifático presente en las cáscaras, tiende a convertirse en la sal correspondiente, dando lugar a una solución amortiguadora disminuyendo la acidez en aproximadamente 50% y un aumento de pH del 15 % (Torres *et al.*, 2013). Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren con la bibliografía citada, posiblemente porque las cáscaras utilizadas proceden de la plaza de mercado “El potrerrillo”, al tratarse de residuos su estado de madurez pudo ser superior al comercial, lo que conlleva a estas pequeñas variaciones, además, la disminución de acidez y aumento del pH ocurren de manera normal durante el proceso de maduración de las frutas, que conjuntamente con las malas prácticas poscosecha pueden afectar estos parámetros (M’hiri *et al.*, 2016).

Los resultados del porcentaje de humedad encontrados en presente estudio son comparables a otros estudios, datos similares fueron reportados por Angoy *et al.* (2020), quien realizó la medición del contenido de humedad de las cáscaras de naranja obteniendo como resultado 75 %. Por otra parte Razzaghi *et al.*, (2019) realizaron la medición utilizando un equipo analizador de humedad reportando un contenido de humedad inicial de $73 \pm 0,15$ %. Estos resultados pueden evidenciar que los residuos de naranja se encontraban en condiciones

normales, además no presentaban daños mecánicos fuertes (golpes, magulladuras) que conllevaran a la posible pérdida de humedad.

8.2. Determinación del Rendimiento de Extracción de Aceite Esencial Mediante Arrastre por Vapor e Hidrodestilación Asistida por Microondas de Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*).

8.2.1. Rendimiento de Extracción Mediante Arrastre por Vapor

Los rendimientos de aceite esencial en DW (Tabla 5), se analizaron mediante un diseño unifactorial con cinco cantidades de masas diferentes, cada tratamiento se realizó por triplicado (Anexo 2).

Tabla 5

*Rendimiento de aceite esencial de residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) mediante arrastre por vapor*

Tratamiento	Cantidad de cáscara (g)	Rendimiento* DW (%)	CV (%)
1	6000	0,505 ± 0,042 ^a	8,406
2	4500	1,485 ± 0,062 ^b	4,204
3	3500	1,751 ± 0,069 ^c	3,948
4	3000	2,082 ± 0,091 ^d	4,362
5	2500	1,984 ± 0,082 ^d	4,110

Nota. *Valores que comparten igual letra en la misma columna no presentan diferencia estadísticamente significativa, (CV) coeficiente de variación, (DW) base seca.

Se verificó la normalidad prueba de (Shapiro-Wilk $n < 50$) y homocedasticidad (prueba de Levene) de los datos de cada tratamiento de la técnica (AV) (Gutiérrez & De La Vara, 2008). Como el valor de $p > 0,05$ los resultados para la extracción de aceite esencial mediante AV tienen un comportamiento normal por cada tratamiento, de igual manera para la prueba de homocedasticidad el valor de $p > 0,05$, por lo tanto, la variabilidad de los resultados es iguales, por lo tanto, hay homocedasticidad (Anexo 3a).

De acuerdo a lo anterior, los resultados del análisis de varianza (Anexo 3b) indicaron que existe diferencia significativa entre los grupos con $p < 0,05$ y mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95 %, se determinó que los tratamientos 4 y 5 no presentan diferencias estadísticamente significativas y presentaban mayor rendimiento de extracción de aceite esencial, por el contrario, los tratamientos 1, 2 y 3 con menor rendimiento de extracción son estadísticamente diferentes con 4 y 5 (Anexo 4). Para seleccionar cuál de ellos fue el más eficiente se tuvo en cuenta que para el tratamiento 4 se ocupaba de manera completa y uniforme el volumen de la autoclave, caso contrario ocurría con el tratamiento 5, puesto que la cantidad de cáscaras no era suficiente para ocupar de manera completa el lugar destinado para el material vegetal, esta situación llevaría a incrementar los costos por cada gramo de aceite esencial extraído, debido a que las condiciones de extracción fueron las mismo para todos los tratamientos, de tal manera que la parte que quedaba vacía en el equipo no estaría contribuyendo en la recuperación de aceite esencial en cuanto a cantidad en gramos (g). Para los tratamientos 1, 2 y 3 la cantidad de cáscara fue mayor pero el rendimiento porcentual inferior, posiblemente a que disminuyó el área de contacto entre el material vegetal y vapor dificultando la extracción del aceite esencial. Lo anterior permitió seleccionar el

tratamiento 4 como el que ofrece mayor porcentaje de rendimiento con un valor de $2,082 \pm 0,091$ DW.

8.2.2. Rendimiento de Aceite Esencial Mediante (MAHD).

Los resultados experimentales del rendimiento de extracción utilizando diferentes condiciones de niveles de los factores se indican en la Tabla 6, todos los ensayos se realizaron por triplicado (Anexo 5).

Tabla 6

Rendimiento de MAHD de aceite esencial de cáscaras de naranja (Citrus sinensis).

Trat	Potencia (W)	Relación (g / mL)	Rendimiento (g)	Rendimiento* DW (%)	CV (%)
2	350	1:2	$0,301 \pm 0,009$	$1,757 \pm 0,050$ ^a	2,822
1	350	1:3	$0,361 \pm 0,014$	$2,105 \pm 0,079$ ^a	3,747
4	420	1:2	$0,432 \pm 0,016$	$2,517 \pm 0,095$ ^b	3,766
3	420	1:3	$0,474 \pm 0,014$	$2,764 \pm 0,082$ ^{b, c}	2,954
8	560	1:2	$0,498 \pm 0,022$	$2,904 \pm 0,130$ ^c	4,486
6	490	1:2	$0,508 \pm 0,018$	$2,962 \pm 0,105$ ^c	3,549
10	630	1:2	$0,579 \pm 0,024$	$3,377 \pm 0,137$ ^d	4,061
7	560	1:3	$0,601 \pm 0,026$	$3,503 \pm 0,150$ ^d	4,294
5	490	1:3	$0,623 \pm 0,032$	$3,635 \pm 0,186$ ^d	5,117
12	700	1:2	$0,634 \pm 0,023$	$3,697 \pm 0,136$ ^{d, e}	3,669
9	630	1:3	$0,691 \pm 0,021$	$4,028 \pm 0,120$ ^{e, f}	2,972
11	700	1:3	$0,701 \pm 0,032$	$4,090 \pm 0,184$ ^f	4,501

Nota. Valores que comparten igual letra en la misma columna no presentan diferencia estadísticamente significativa, coeficiente de variación (CV).

Los resultados obtenidos mediante la técnica (MAHD) se sometieron a un análisis de normalidad con la prueba de (Sapiro-Wilk, $n < 50$) y homocedasticidad mediante el estadístico de Levene

En la prueba de Sapiro-Wilk se obtuvo un valor de $p > 0,05$, es decir los resultados para la extracción de aceite esencial mediante MAHD tienen un comportamiento normal, de igual manera para la prueba de homocedasticidad el valor de $p > 0,05$, indicando que no existe variabilidad entre los datos, por lo tanto, hay homocedasticidad (Anexo 6a).

El análisis de varianza (Anexo 6b) indicó que tanto la relación sólido:solvente y potencia de operación fueron significativos en la MAHD con valores de $p \leq 0,05$. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95 %, permitió identificar que el mayor rendimiento de extracción de aceite esencial se obtuvo con los tratamientos 9 y 11, los cuales no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al porcentaje de rendimiento en DW, de igual manera el tratamiento 9 es estadísticamente igual al 12, sin embargo, los tratamientos 11 y 12 son los que utilizan la potencia más alta del equipo. Por lo tanto, para la selección se tuvo en cuenta el menor consumo energético del tratamiento 9 con una potencia de 630 W y una relación de 1:3 (g:mL), en comparación con el 11 y 12 que operan a una potencia de 700W (Anexo 7 y 8), esto conlleva a incrementar el consumo energético durante la extracción, puesto que las demás condiciones de operación fueron las mismas para todos los tratamientos.

Para comparar el porcentaje de rendimiento de los métodos de extracción de aceite esencial de cascaras de naranja (*Citrus sinensis*) mediante las técnicas (AV y MAHD) (Tabla 7), se tomó una base de cálculo de 1000 g para los dos casos, evaluando la cantidad de aceite que se puede obtener.

Tabla 7

Comparación del rendimiento de extracción de aceite esencia de los mejores tratamientos (AV y MAHD).

Método	Condiciones	Rendimiento DW (%)	Cantidad de aceite en (g)
Arrastre por vapor	Tiempo 2 horas	2,082 ± 0,091	20,082 ± 0,910
Extracción Asistida por microondas (MAHD)	630 W, 1:3 g: mL 4 ciclos de 5 minutos	4,028 ± 0,120	40,280 ± 1,200

Utilizando una base de cálculo de 1000 g de cáscara de naranja (DW) y con el porcentaje de rendimiento del mejor tratamiento de cada método, se determinó que el MAHD presenta un mayor rendimiento de extracción dos veces superior al método de AV (Tabla 7). Esto permitió seleccionar el MAHD como el método más eficiente en rendimiento de extracción, las condiciones de operación fueron: relación cáscaras:solvente (g/mL) de 1:3, potencia de radiación 630 W en 4 ciclos de 5 minutos para obtener un valor de rendimiento porcentual de $4,028 \pm 0,120$ (DW). Este resultado se corroboró con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95 %, como también con la prueba t para muestras independientes donde se obtuvo un valor de $p \leq 0,05$ indicando que existe diferencia estadísticamente significativa entre las dos técnicas de extracción, por lo cual MAHD se selecciona como la más eficiente en cuanto a rendimiento porcentual (Anexo 9).

Bustamante *et al.* (2016) realizaron extracción de aceite esencial de residuos de cáscara de naranja mediante MAHD a diferentes potencias (300 – 1000 W) y relación cáscaras:agua (1:1,5 y 1:5) (g/mL), con un rendimiento porcentual de $1,8 \pm 0,1$ % (DW) en condiciones de 800 W y relación 1:1,5, de igual manera Franco-Vega *et al.*, (2016) reportaron rendimiento

porcentual de $0,92 \pm 0,42$ a $2,73 \pm 0,34$ (DW) que siguen siendo menores. Para la técnica de arrastre por vapor el rendimiento de extracción estuvo entre $0,505 \pm 0,042$ a $2,082 \pm 0,091$ (DW), Rezzoug & Louka, (2009) obtuvieron rendimiento de extracción de 2 % mediante AV, valores muy similares al reportado en el presente estudio.

La técnica MAHD fue más eficiente en el rendimiento de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) en comparación con la técnica clásica AV. Esto posiblemente sucede porque las microondas se difunden desde el interior hacia el exterior de las células vegetales liberando rápidamente el aceite del material vegetal, además, la vibración del agua y de otras moléculas polares causadas por las microondas, da lugar a aumentos instantáneos de presión y temperatura dentro de la muestra, lo cual ocasiona que las paredes glandulares se rompan eficientemente y con mayor velocidad liberando así el aceite esencial (Z. Liu *et al.*, 2021), además, el efecto sinérgico de los fenómenos la transferencia de masa y calor facilitan la extracción mejorando el rendimiento (Drinić *et al.*, 2021). En la MAHD la transferencia de calor se lleva a cabo por: radiación (mediante las microondas generando movimiento en las moléculas de agua), conducción (del agua al material vegetal y de molécula a molécula) y convección (por el movimiento de las moléculas de agua de zonas cálidas a frías), generando calor con mayor rapidez dentro y fuera de las glándulas sebáceas de la matriz vegetal, por el contrario mediante AV la transferencia de calor ocurre por conducción y convección haciendo que sea menos efectivo (León Méndez *et al.*, 2015).

De manera similar, la técnica de AV ofrece un menor rendimiento debido a que muchas de las células que se encuentran en la parte interna de los cortes de cáscaras no desprenden el aceite que se encuentra en las glándulas sebáceas puesto que el vapor no ejerce la suficiente presión para lacerar y liberar el aceite (Obregon, 2018). Sin embargo, el contenido y

composición del aceite esencial depende de la variabilidad entre los diferentes frutos cítricos y de factores poscosecha (transporte, pretratamiento y almacenamiento) (Kamal *et al.*, 2011).

8.3. Evaluación de la Influencia de los Parámetros de la Extracción Asistida por Ultrasonido en la obtención de Polifenoles y Flavonoides Totales Presentes en Residuos de Cáscaras de Naranja (*Citrus sinensis*).

8.3.1. Curva de Calibración de Polifenoles y Flavonoides

La gráfica y la ecuación de la curva patrón de polifenoles y flavonoides (Anexo 10a y 10b), con coeficiente de correlación de 0,994 y 0,994 respectivamente, indicando un buen ajuste de resultados.

8.3.2. Cinética de Extracción

Los resultados obtenidos durante la cinética de extracción se representan en la Figura 5 y 6 se para la extracción para el TPC y TFC mediante UEA.

Figura 5

Cinética de extracción para el TPC de cáscaras de naranja (Citrus sinensis) a frecuencias de 37 y 80 KHz.

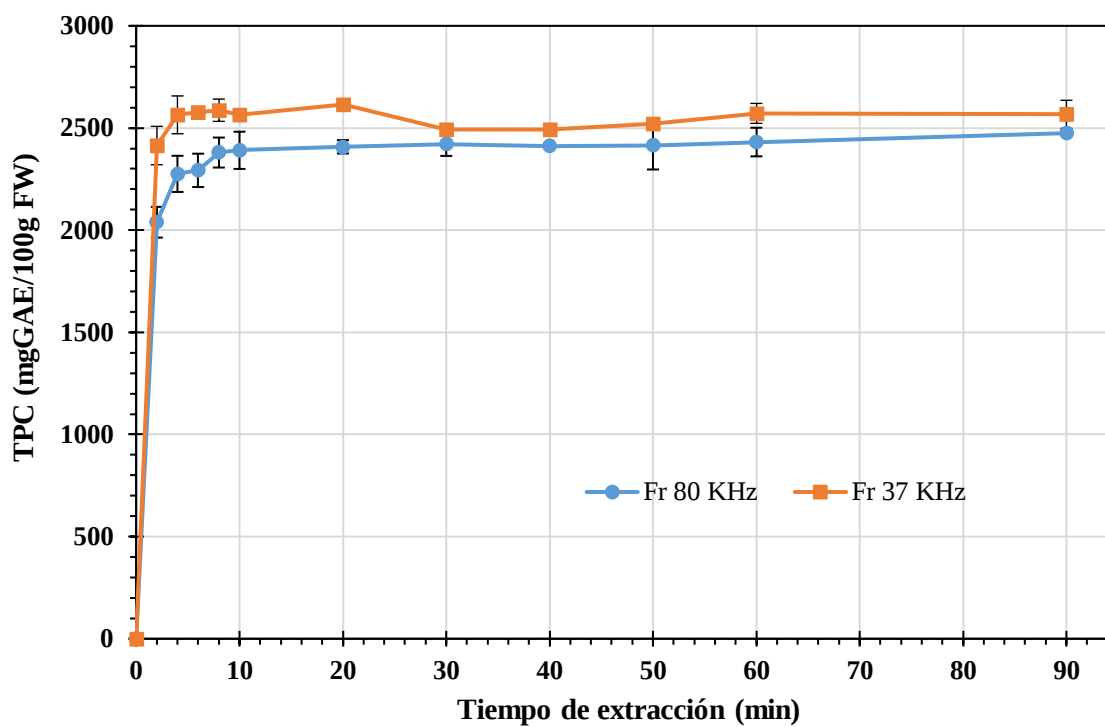
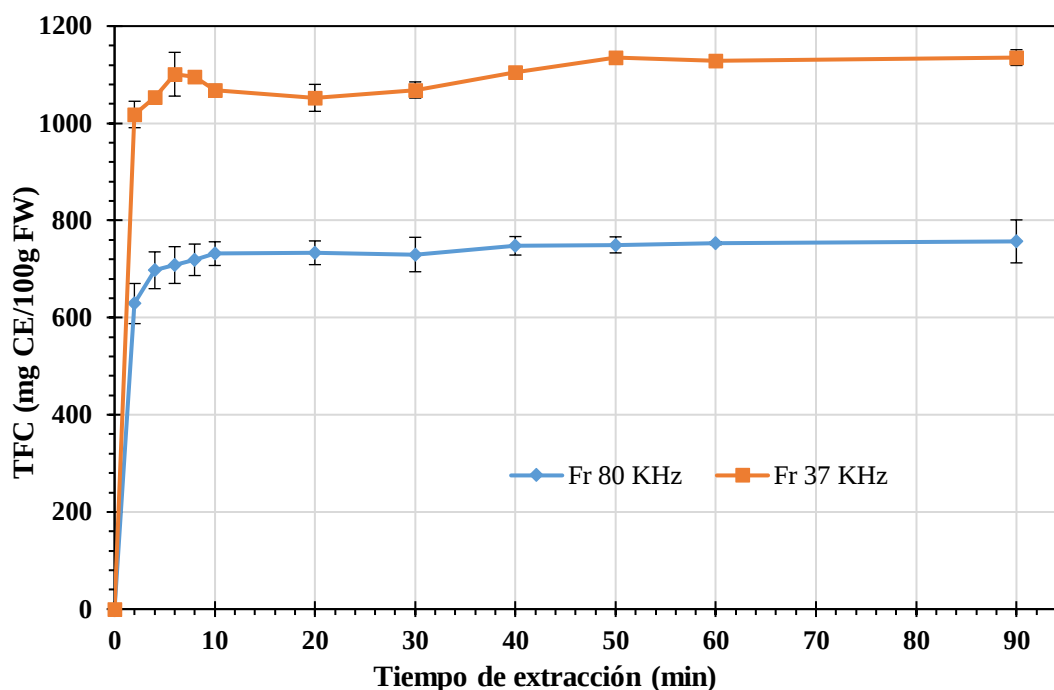


Figura 6

Cinética de extracción para el TFC de cáscaras de naranja (Citrus sinensis) a frecuencias de 37 y 80 KHz.



Las cinéticas de extracción (Figuras 6 y 5), muestran diferencias en el TPC y TFC recuperados mediante UEA a diferentes tiempos y frecuencias de operación. El análisis de varianza (Anexo 11), mostró que $p < 0,05$ para todos los casos. La prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95 % determinó que el tiempo máximo para la recuperación del TPC y TFC fue de 6 minutos, tiempos superiores no mostraron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad extraída de polifenoles y flavonoides totales. Estos resultados son similares a los reportados por Gómez-Mejía *et al.* (2019), quienes obtuvieron un tiempo de extracción de compuestos fenólicos de 10 minutos, Carrera *et al.* (2012) evaluaron diferentes variables de extracción de compuestos fenólicos presentes en la uva mediante UEA entre ellos el tiempo de extracción en un intervalo de (3 - 15 minutos), determinaron que tiempos

superiores a 6 minutos no mostraron diferencias significativas en la cantidad de compuestos fenólicos recuperados. Esta situación puede explicarse debido a que la mayor cantidad de compuestos fenólicos presentes en las células de la matriz vegetal se liberan en el periodo inicial de extracción, debido a que la EAU mejora y agiliza la recuperación de estos compuestos (Prakash *et al.*, 2017). Adicionalmente, las cáscaras utilizadas para la obtención de compuestos bioactivos fueron previamente sometidas a MAHD durante la extracción de aceite esencial, este proceso puede favorecer la deshidratación de la pared celular, reduciendo la resistencia mecánica y permitiendo una fácil penetración del solvente en los canales celulares mejorando la liberación de los compuestos bioactivos, de igual manera, el calentamiento por microondas provoca daño celular que debilita su microestructura, en consecuencia pudo favorecer la rápida transferencia de masa del soluto al solvente (M'hiri *et al.*, 2016). Por su parte la posterior eliminación del aceite esencial de las cáscaras mediante la MAHD pudo mejorar la transferencia de masa interna, debido a que el sobrecalentamiento interno rompe las membranas celulares y los cloroplastos facilitando la recuperación de los solutos de interés (Rodríguez-Rojo *et al.*, 2012).

Durante este tiempo a una frecuencia de 37 KHz se recuperó un 98 % del TPC y 96,9 % del TFC, de igual manera, para la frecuencia de 80 KHz se recuperó un 92,6 % de TPC y 93,6% del TFC, estos resultados estarían acorde a lo mencionado por Tao *et al.* (2014), quienes comentan que mediante EAU más de un 90 % de los compuestos fenólicos se recuperan por medio de un lavado del contenido celular, fenómeno que ocurre durante los primeros 10 minutos. Esto podría indicar que la mayoría de compuestos fenólicos estarían ubicados en la superficie de las células, adicionalmente el tamaño de partícula (150 micras) mejora la superficie de contacto entre el solvente y la matriz vegetal facilitando la difusión y lavado del material celular, lo que

pudo incrementar la velocidad del proceso de extracción de compuestos fenólicos (Ferrentino *et al.*, 2018).

La frecuencia de 37 KHz presento mayor eficiencia de extracción, superando en 11,1 % del TPC y 35,7 % del TFC comparado con el tratamiento a la frecuencia de 80 KHz. Según Tiwari, (2015), bajas frecuencias (20 - 60 KHz) no afectan la estabilidad de compuestos fenólicos. Por su parte Tchabo *et al.* (2015) indican que las bajas frecuencias de sonicación podrían aumentar la actividad de algunas enzimas como la pectinasa que pueden desintegrar las paredes y membranas celulares, por tanto promover el paso de los compuestos fenólicos al solvente; por el contrario altas frecuencias pueden ocasionar una disminución de TPC, lo cual podría atribuirse a la reacción de oxidación, provocada por la interacción con los radicales libres (OH) producidos durante la sonicación.

De igual manera, Rodríguez Riera *et al.* (2014), explican que las frecuencias más utilizadas están en el rangos de 20 – 100 KHz, siendo las frecuencias bajas (20 KHz) en las que prevalecen los efectos físicos del ultrasonido que determinan la extracción efectiva de los componentes del material vegetal debido a un incremento en la transferencia de masa sin que haya degradación de los metabolitos presentes.

Estas situaciones podrían ser las responsables de que se haya obtenido una mayor cantidad de TPC y TFC en la frecuencia más baja utilizada en este estudio (37 KHz) como se representa en la Figura 6 y 5 con incremento en la cantidad de compuestos bioactivos recuperados.

8.3.3. Modelamiento Matemático para la Extracción de TPC y TFC a Frecuencia de 37 KHz

El modelamiento de la cinética de extracción permitió predecir la concentración en el equilibrio de los compuestos en un tiempo determinado. Los datos se ajustaron a un modelo matemático de primero orden (Katsampa *et al.*, 2015), como expresa la ecuación 7.

$$Y_t = Y_s(1 - e^{-kt}) \quad \text{Ecuación 7}$$

Dónde:

Y_t : es el porcentaje extraído en algún tiempo

Y_s : es el porcentaje extraído en saturación

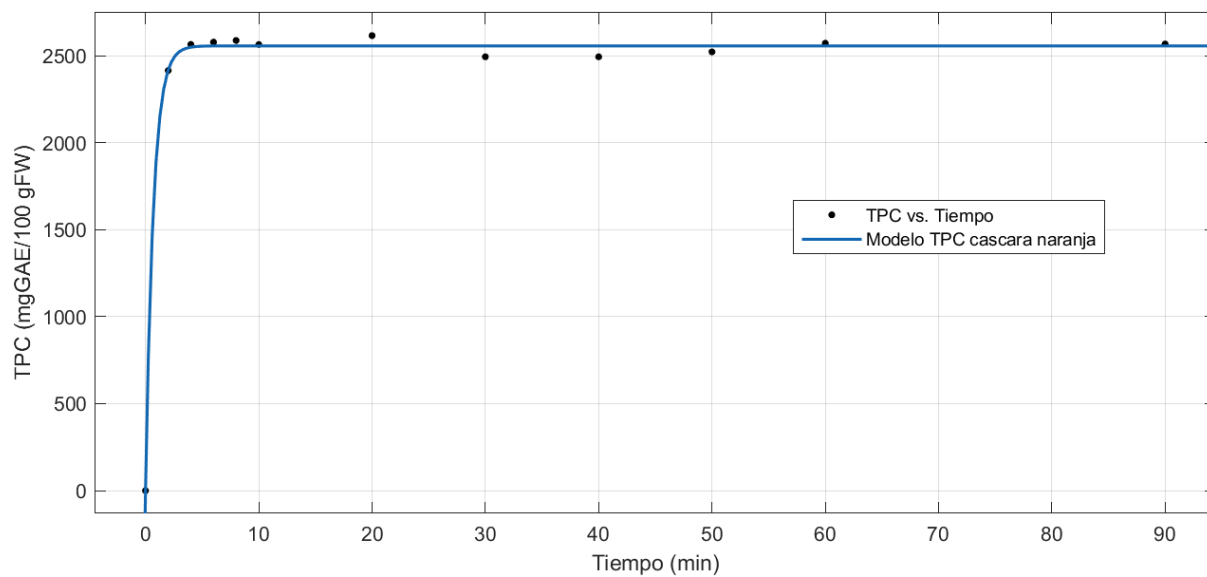
k : constante cinética de primer orden

Se estimó la constante cinética (k) y porcentaje extraído en saturación (Y_s). En las Figuras 7a y 7b se observar el resultado del modelo matemático de TPC Y TFC respectivamente.

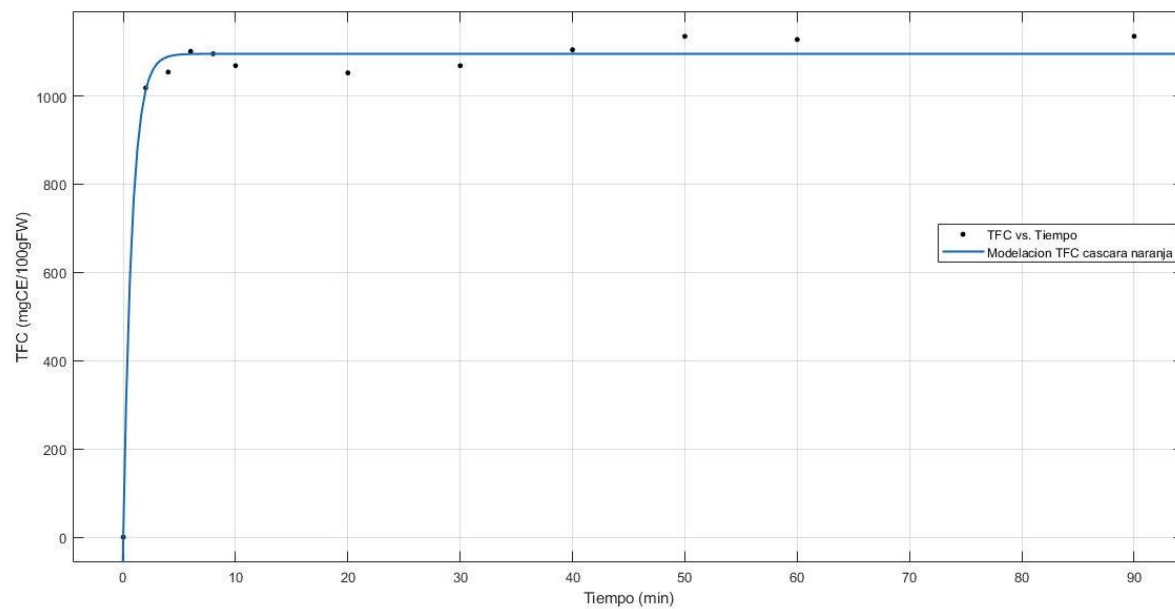
Figura 7

Modelamiento matemático para la cinética de extracción de cáscaras de naranja (Citrus sinensis) a una frecuencia de 37 KHz para el TPC (a) y TFC (b).

(a)



(b)



El modelo matemático utilizado predice en términos de R^2 un 99% el comportamiento cinético de la extracción de TPC y TFC de residuos de cascara de naranja (*Citrus sinensis*) mediante UEA, los parámetros cinéticos de compuestos bioactivos (Tabla 8). El Contenido máximo de polifenoles (saturación) es 2556 mg GAE /100 g FW y para flavonoides es de 1095 mg CE /100 g FW, se puede observar que la constante cinética (k) es levemente mayor para polifenoles con valor de $1,452 \text{ min}^{-1}$ en comparación con la de flavonoides de $1,293 \text{ min}^{-1}$, esto hace que sea ligeramente más rápido (Tabla 8). Sant'Anna *et al.* (2012) reportan un valor de k para la extracción de polifenoles de 0.130 min^{-1} de residuos de uva utilizando como solvente etanol al 50 %; de igual manera Pingret *et al.* (2012) obtuvieron un valor de k de $0,130 \text{ min}^{-1}$ mediante EAU de polifenoles de cascara de manzana (*Malus domestica* Borkh) utilizando como solvente agua a 40°C .

Por su parte Harouna-Oumarou *et al.* (2007), utilizaron agua caliente a 80°C para extraer polifenoles, reportando un valor de k de *Tilia* de $0,012 \text{ min}^{-1}$, de igual manera k de $0,0549 \text{ min}^{-1}$ mediante EUA de residuos de cebolla (Katsampa *et al.*, 2015). Estos resultados de la constante cinética del modelado son inferiores a los reportados en el presente estudio, esto podría estar asociado al previo pretratamiento de extracción de aceite con microondas que posiblemente facilito una rápida extracción de polifenoles y flavonoides totales al estar más disponibles para que la UAE sea más efectiva.

Tabla 8

Parámetros cinéticos del modelamiento matemático a frecuencia 37 KHz para el TPC y TFC.

Parámetros cinéticos	Polifenoles	Flavonoides
Y_s	2556 mg GAE/100 g FW	1095 mg CE/100 g FW
K (min⁻¹)	1,452	1,293
R²	0,9976	0,9919
R² - ajustado	0.9973	0.9911

8.3.4. Metodología Superficie de Respuesta, Diseño Central Compuesto (DCC).

Los parámetros evaluados temperatura, relación sólido:solvente (g/mL) y porcentaje de solvente sobre las variables de respuesta TPC y TFC presentes en cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) se presentan en (Anexos 12a y 12b). Las corridas experimentales mediante un DCC (Tabla 9) están representadas en las diferentes combinaciones con las que se obtiene máxima información del proceso de extracción de compuestos bioactivos (Prakash *et al.*, 2017)

Tabla 9*DCC para la optimización de extracción de compuestos bioactivos.*

Pruebas	Solvente (%)	Relación (g:mL)	Temperatura (°C)	TPC mg GAE/100 g FW	TFC mg CE/100 g FW
1	50	40	40	2294,12 ± 31,11	774,87 ± 11,25
2	30	20	55	2090,99 ± 89,44	690,14 ± 20,64
3	50	40	40	2409,39 ± 2,69	726,22 ± 8,26
4	83,64	40	40	2001,29 ± 32,71	913,61 ± 63,73
5	50	40	40	2325,28 ± 37,77	717,21 ± 41,99
6	50	73,64	40	2663,37 ± 71,63	975,35 ± 139,31
7	30	60	55	2691,19 ± 28,33	929,87 ± 68,96
8	30	20	25	1933,67 ± 65,35	609,96 ± 34,22
9	50	40	14,77	2482,60 ± 49,23	742,43 ± 6,24
10	50	40	40	2376,68 ± 110,22	682,98 ± 18,98
11	70	20	55	2087,10 ± 111,34	609,96 ± 21,85
12	50	6,36	40	1461,55 ± 69,36	269,20 ± 8,20
13	70	60	25	2548,67 ± 51,67	797,44 ± 12,38
14	50	40	65,22	2906,28 ± 163,57	821,71 ± 32,43
15	16,36	40	40	2345,53 ± 98,50	866,76 ± 69,50
16	70	20	25	2115,91 ± 117,62	613,56 ± 28,47
17	70	60	55	2716,90 ± 65,13	1129,87 ± 174,72
18	30	60	25	2345,40 ± 68,07	805,54 ± 12,38

Nota. **(TPC)** contenido total de polifenoles, **(TFC)** contenido total de flavonoides, **(GAE)** equivalente de ácido gálico, **(CE)** equivalente catequina.

Para verificar el comportamiento normal de los resultados obtenidos mediante UEA tanto del TPC y TFC, se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, ($n > 50$), y homocedasticidad mediante el estadístico de Levene.

Se obtuvo un valor de $p > 0,05$ para las dos variables de respuesta, por esta razón los resultados para la extracción de compuestos bioactivos mediante UEA tienen un comportamiento normal. La homocedasticidad el valor de $p > 0,05$ para el TPC, por lo tanto, la variabilidad de los resultados es iguales. Caso contrario ocurrió para TFC (Anexo 13).

8.3.5. Modelo Polinomial de Segundo Orden

Los resultados experimentales obtenidos en el DCC se ajustaron en ecuaciones polinomiales de segundo orden, se desarrollaron dos modelos empíricos (Ecuación 8 y 9) presentadas en forma codificada, permitieron articular la relación entre los factores evaluados en la UEA y las variables de respuesta (TPC y TFC).

$$\text{TPC} = 2350,95 - 12,57*A + 299,90*B + 99,22*C + 6,33*(A*B) - 45,46*(A*C) + 48,19*(B*C) - 61,05*A^2 - 100,28*B^2 + 123,16*C^2$$

Ecuación 8

$$\text{TFC} = 725,02 + 14,21*A + 170,37*B + 48,82*C + 33,56*(A*B) + 15,54*(A*C) + 47,52*(B*C) + 59,60*A^2 - 35,12*B^2 + 21,38*C^2$$

Ecuación 9

Dónde: **(A)** solvente (% etanol), **(B)** es la relación sólido:solvente (g/mL), **(C)** la temperatura (°C), **(A², B² y C²)** son los factores cuadráticos de: solvente (% etanol), relación sólido/solvente (g/mL), temperatura (°C) y **(A*B, A*C y B*C)** son las interacciones entre solvente (% etanol), relación sólido/solvente (g/mL), temperatura (°C).

Los datos experimentales se analizaron y ajustaron al modelo cuadrático, puesto que presenta valores de R^2_{aj} para las dos variables de respuesta de 0,866. Según Gutiérrez & De La Vara, (2008) si el modelo no explica un mínimo del 70% del comportamiento de la respuesta, en términos del R^2_{aj} , no se recomienda utilizarlo para fines de optimización por la mala calidad de predicción. Por lo cual los datos de la presente investigación se pueden utilizar para optimización.

Además de presentar un R^2 cercano a 1 tanto para el TPC y TFC, el modelo cuadrático propuesto en las Ecuaciones 7 y 8, se caracterizaron por tener un valor $p < 0,05$, un alto valor de F (Poyraz *et al.*, 2021; Prakash *et al.*, 2017) (Tabla 10). Estas condiciones hacen que el modelo sea adecuado para describir el comportamiento de los datos obtenidos mediante UEA para el TPC y TFC residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*).

Tabla 10

Características del modelo cuadrático para la UEA de extracción del TPC y TFC.

Variables de respuesta	F-valor	p-valor	R^2	R^2_{aj}	Falta de ajuste
TPC					
(mg GAE/100 g FW)	13,25	0,0007	0,9371	0,866	0,0517
TFC					
(mg CE/100 g FW)	13,19	0,0007	0,9369	0,866	0,1243

8.3.6. Influencia de los Factores de Estudio

Los factores involucrados en el modelo y su efecto fueron analizados mediante análisis de varianza (Anexo 14a y 14b).

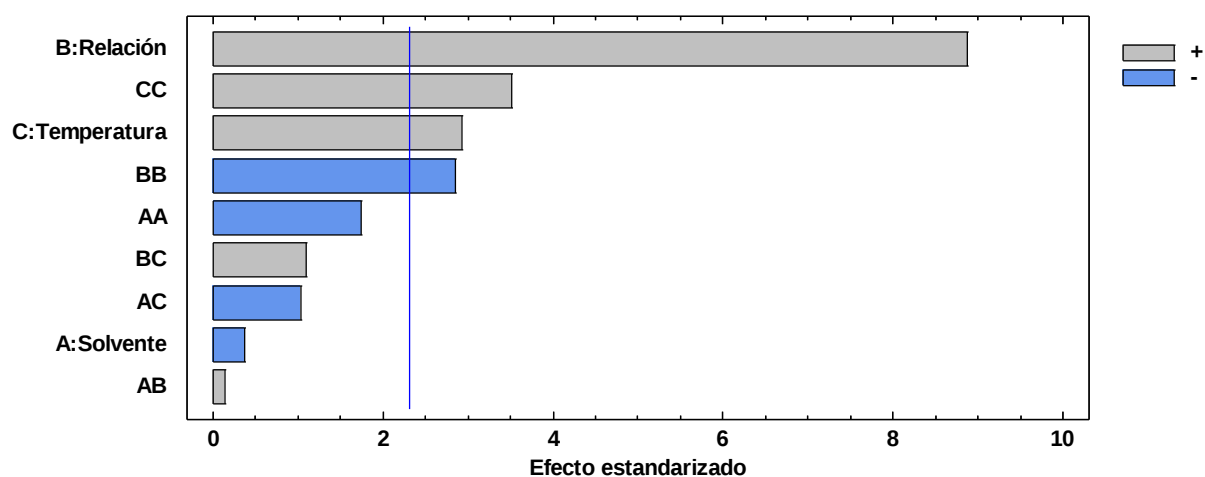
Se determinó que para el factor porcentaje de solvente el valor-p fue mayor a 0,05 tanto para el TPC y TFC, por esta razón, este factor no tiene efecto estadísticamente significativo sobre las variables de respuesta con un nivel de confianza de 95 %, por el contrario, los factores relación sólido:solvente y temperatura con valor $p < 0,05$, tiene efecto estadísticamente significativo.

Los gráficos de Pareto (Figura 8a y 8b), muestran el efecto de cada una de las variables independientes sobre la extracción de compuestos bioactivos, el factor cuadráticos de la temperatura y relación sólido:solvente para el caso de TPC y el factor cuadrático del porcentaje de solvente para el TFC representan la formación de curvatura en las gráficas de superficie de interacción que permiten encontrar valores óptimos de extracción.

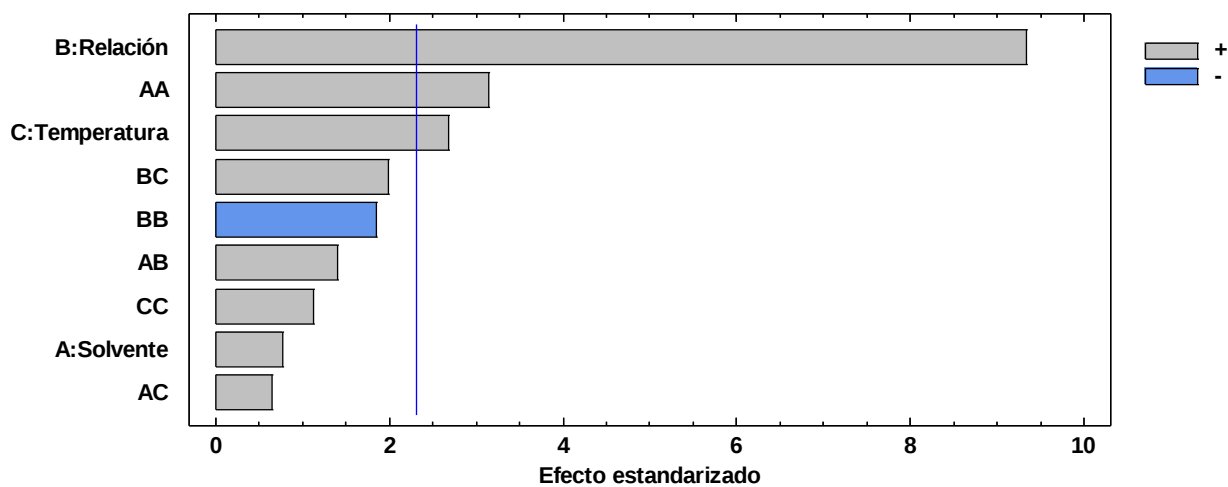
Figura 8

Gráficos de Pareto para el TPC (a) y TFC (b) extraídos mediante EUA.

(a)



(b)



8.3.6.1. Efecto del Porcentaje de Solvente en la UEA de TPC y TFC.

El etanol por su polaridad tiene gran afinidad por los compuestos fenólicos que lo ha convertido en una buena opción al momento extraer estos compuestos (Ramić *et al.*, 2015), sin embargo, en el presente estudio el etanol mostró tener efecto no significativo sobre la extracción

de TPC y TFC, de manera similar Gómez-Mejía *et al.* (2019) realizaron la extracción de rutina y transfer-ferílico de naranja, como resultado obtuvieron que el porcentaje de solvente podía disminuirse hasta un 20 % sin afectar el rendimiento. Como se explicó anteriormente los residuos utilizados para la UEA fueron previamente sometidos a extracción de aceite esencial mediante MAHD lo que posiblemente deshidrató la celulosa y debilitó su estructura celular, en consecuencia facilitó el ingreso del solvente a su interior permitiendo una mejor extracción de polifenoles y flavonoides, además, el pequeño tamaño de partícula (150 micras) pudo haber mejorado la superficie de contacto entre el material vegetal y el solvente, de tal manera que la constante dieléctrica del solvente a concentraciones bajas de etanol pudo ser suficiente para solubilizar los compuestos de interés (M'hiri *et al.*, 2016).

Garcia-Castello *et al.*, (2015) determinaron condiciones óptimas mediante UEA, reportando una temperatura de 25 °C, concentración de etanol de 0,4 (g/g) (40 g/100 g) y tiempo de 55 min para obtener TPC de 80,0 mg GAE/ g DW, sin embargo, realizaron pruebas con deseabilidad cercana a 1 en condiciones de a temperatura (25 °C), concentración de etanol 0 (cero) y tiempo de 3 min obtuvieron resultados similares de TPC = 75,3 mg GAE/g DW, demostrando que es posible obtener rendimientos similares sin uso de disolventes orgánicos, este resultado coincide con lo reportado en el presente estudio el solvente no fue estadísticamente significativo (Ghafoor *et al.*, 2009).

8.3.6.2. Efecto de la Temperatura en UEA de TPC y TFC.

Los resultados obtenidos indicaron que la temperatura mostró un efecto lineal y cuadrático positivo sobre la extracción del TPC, mientras que para TFC solo fue lineal positiva. En la presente investigación al incrementar la temperatura de 25 – 55 °C aumentó el contenido de compuestos bioactivos incluso hasta el punto estrella 64,7 °C. Tao, Zhang, *et al.* (2014),

reportan un aumento en el rendimiento de fenoles totales en un rango de 20 – 50 °C mediante UEA, similarmente Wang *et al.* (2008), evaluaron el contenido fenólico de salvado de trigo a temperaturas de 25 – 75 °C, determinando que desde 65 a 75 °C no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad extraída. Esto posiblemente se debe a que durante las altas temperaturas se forman gran cantidad de núcleos cavitaciones que al colapsar destruyen la pared celular del material vegetal, por lo tanto los metabolitos de interés emergen de la matriz al solvente mejorando la transferencia de masa (Prakash *et al.*, 2017). Por otra parte el incremento en la temperatura conduce a la ruptura de la pared celular lo que favorece la lixiviación de los compuestos bioactivos al solvente, además, mejora la desorción y solubilidad generando mayor difusión del solvente en el material vegetal, lo que conlleva al aumento en el rendimiento de compuestos bioactivos (Kumar *et al.*, 2021), de igual manera el aumento de temperatura es inversamente proporcional a la tensión superficial, lo cual mejora la humectación del material vegetal, como resultado se tiene una extracción más eficiente (Jovanović *et al.*, 2017), en las cáscaras de los cítricos disminuye la viscosidad y densidad facilitando la penetración del solvente en la matriz vegetal mejorando su exposición y solubilidad incrementando la eficiencia de extracción de los compuestos (Poyraz *et al.*, 2021).

8.3.6.3. Efecto de la Relación sólido:solvente en la UEA de TPC y TFC.

La relación sólido:solvente mostró un efecto lineal positivo sobre el rendimiento de TPC y TFC recuperados mediante EUA en el intervalo 1:20 – 1:60 (g:mL), siendo la más influyente entre las variables analizadas en el presente estudio, es decir a medida se la relación aumentó la cantidad de bioactivos recuperados también mejoró. Esta situación podría explicarse debido a que la diferencia de concentración entre el interior de la célula vegetal y el solvente exterior favoreció el gradiente de concentración entre el sólido y la masa del disolvente con el

consecuente aumento de la fuerza motriz de los polifenoles (Ying *et al.*, 2011). De igual manera también se podría atribuir a que el aumento del volumen de solvente facilita la dilución de polifenoles y flavonoides mejorando el rendimiento de extracción (Al-Dhabi *et al.*, 2017; Prakash *et al.*, 2017). A medida que aumenta la cantidad de soluto la viscosidad de la solución es alta, según Kumar *et al.*, (2021) la alta viscosidad dificulta el efecto de cavitación puesto que las fuerzas de cohesión que se deben superar son más fuertes, por el contrario, a viscosidades bajas la intensidad de ultrasonido sobre el material vegetal es mayor, favoreciendo la erosión, fragmentación y formación que permiten liberar con mayor facilidad los compuestos bioactivos.

Sin embargo Khan *et al.*, (2010), mencionan que la degradación ultrasónica de los fenoles es lenta comparada con los compuestos aromáticos más volátiles que se dispersan con mayor facilidad en la burbuja de cavitación por la pirolisis. Esta degradación de los fenoles esta favorecida por las frecuencias más altas (generando radical hidroxilo por ruptura de los átomos del agua) (Chowdhury & Viraraghavan, 2009). Para el presente estudio se utilizó una frecuencia baja de 37 KHz y un tiempo de extracción de 6 minutos, estas condiciones pudieron ayudar a que la degradación sea mínima.

8.3.7. Optimización de los factores

La función de deseabilidad (cercana o igual a 1), es una técnica de optimización numérica que permite encontrar cualquier combinación de variables de proceso, buscando una interacción adecuada del nivel de factor que satisfaga simultáneamente los requisitos para cada respuesta en el diseño (Al-Dhabi *et al.*, 2017). Las condiciones óptimas para EAU del TPC y TFC de los residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) encontradas en el presente estudio fueron: Solvente 69,8 % de etanol, relación sólido/solvente 1:55,3 g:mL y temperatura de 64,7 °C con deseabilidad 1. Sin embargo, como el porcentaje de solvente no tuvo efecto estadísticamente

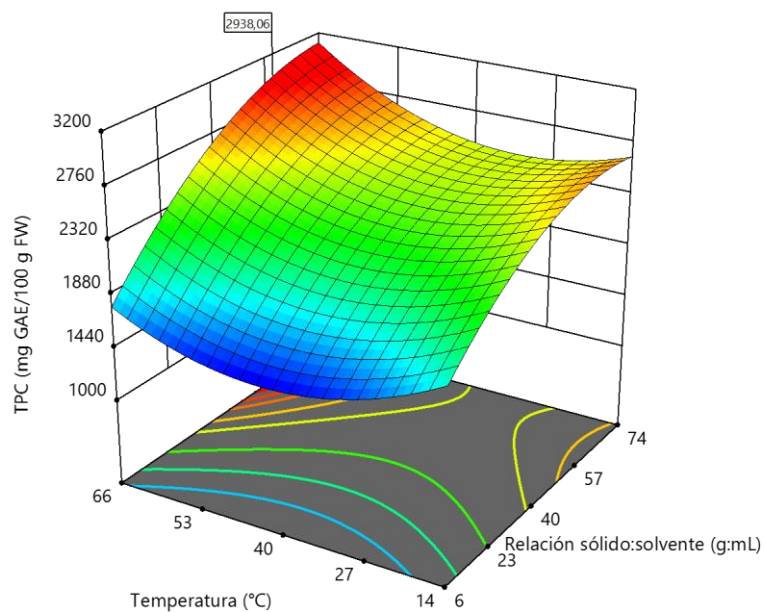
significativo sobre las variables de respuesta, se comprobó realizando una medición de TPC y TFC con un nivel más bajo.

Los diagramas de superficie de respuesta y contorno de interacción son representaciones gráficas de las ecuaciones de regresión (Ecuación 8 y 9). Las variables optimizadas se ubicaron en las gráficas según el valor correspondiente (Figura 9 y 10).

Figura 9

Superficie de respuesta (a) y contorno de interacción (b) para el TPC de cáscara de naranja (Citrus sinensis) (el porcentaje de solvente fue 69,8 %).

(a)



(b)

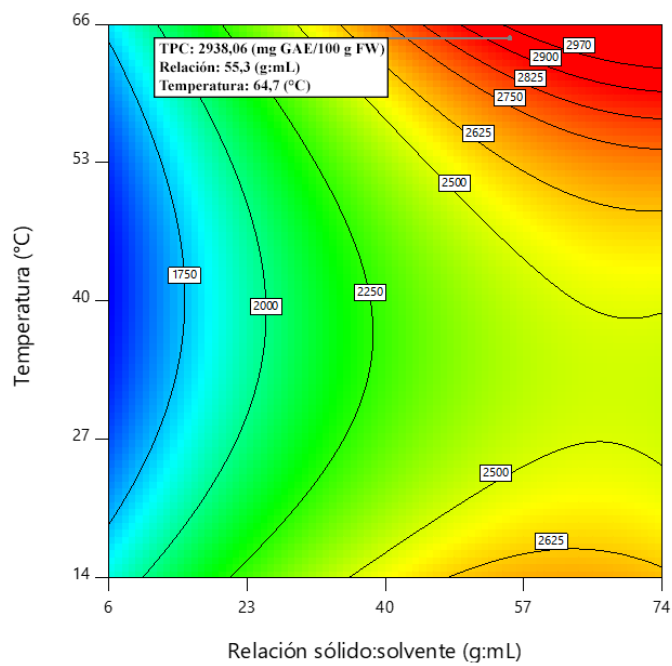
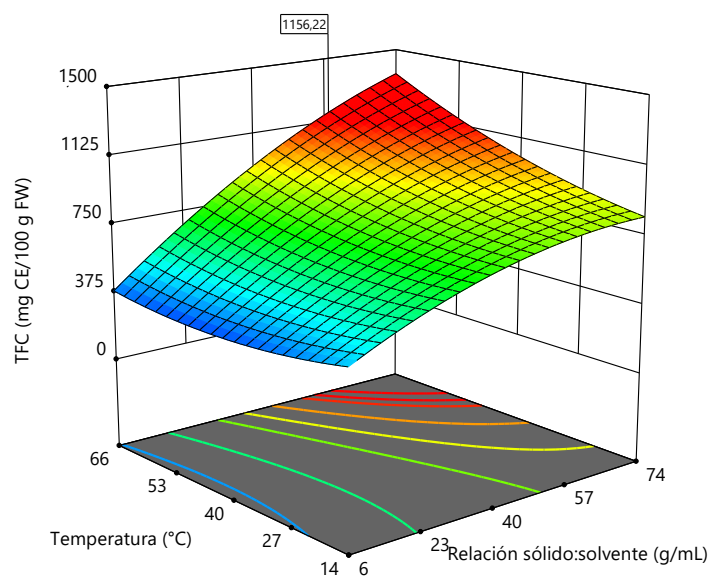


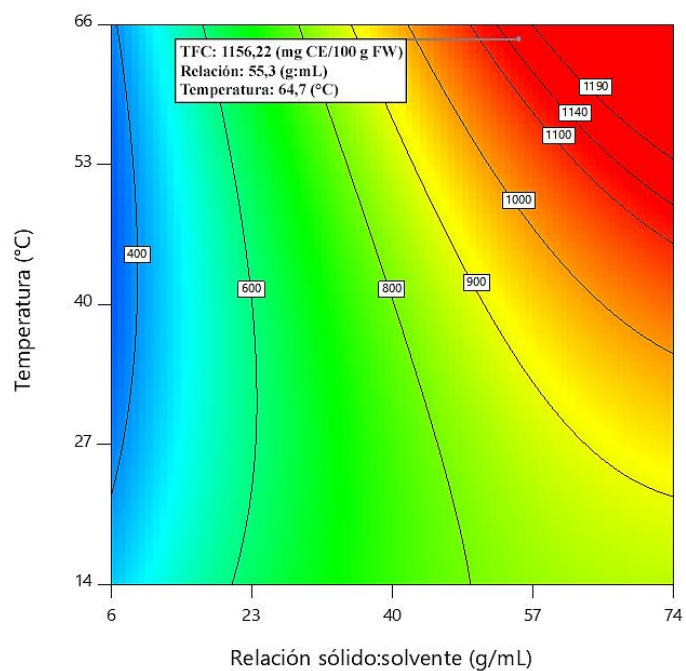
Figura 10

Superficie de respuesta (a) y contorno de interacción (b) para el TFC de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) (el porcentaje de solvente fue 69,8 %).

(a)



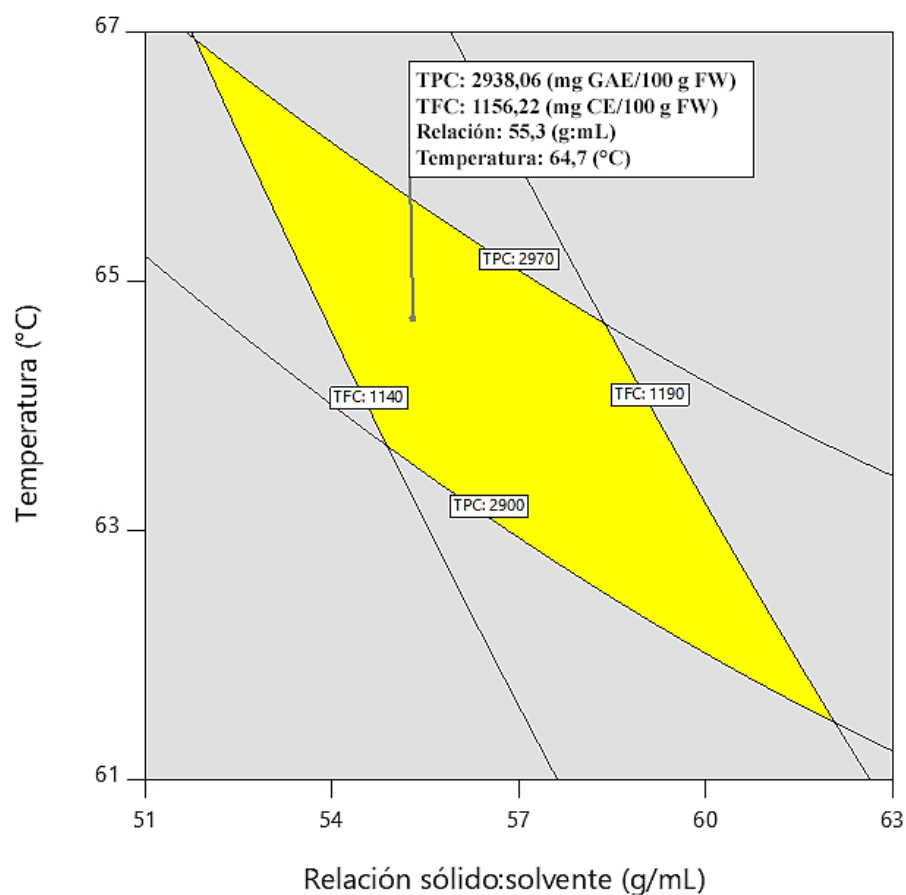
(b)



Los factores significativos ($p < 0,05$) de UEA sobre las variables de respuesta se representan mediante el gráfico de superposición de contornos (Figura 11). El área delimitada en el gráfico representa el rango adecuado de factores experimentales con deseabilidad cercana a 1, permitiendo maximizar simultáneamente el TPC y TFC presentes en residuos.

Figura 11

Superposición de contornos para la EUA del TPC y TFC presentes en cáscara de naranja (Citrus sinensis).



8.3.8. Validación e Idoneidad de Método

Para verificar la idoneidad de la optimización de respuestas múltiple, se llevaron a cabo dos experimentos por triplicado bajo las condiciones óptimas con el objetivo de comparar los resultados experimentales con los predichos en términos del TPC y TFC (Tabla 11). Se manejó

igual valor para relación sólido:solvente 1:55,3 (g:mL) y temperatura 64,7 °C, para verificar si efectivamente el porcentaje de solvente no tenía efecto estadísticamente significativo se trabajó con dos porcentajes de solvente, un porcentaje mayor y otro inferior; para el primer caso 69,8 % y el segundo 17,6 %. Sin embargo, el porcentaje de error entre los valores experimentales y predichos fue inferior para el caso uno que manejo un porcentaje de solvente de 69,8, así como también un valor de deseabilidad superior al caso dos que utilizó 17,6 % de etanol. Para el caso uno los valores experimentales diferían con los predichos en un valor inferior al 4,3 % (Tabla 11), valores no muy lejanos a los reportados Prakash *et al.*, (2017) con porcentajes de variación en condiciones óptimas para TPC de 1 %, TFC 3 %, de igual manera Vallejo-Castillo *et al.*, (2019) reportan una diferencia menor al 6% entre los valores teóricos y experimentales para el TPC y TFC recuperados mediante extracción asistida por microondas (MAE). Estos resultados confirman la idoneidad del modelo para la optimización.

Tabla 11

Comparación de valor experimental y predicho para el TPC y TFC de cáscara de naranja (Citrus sinensis) bajo las condiciones óptimas.

Casos	Variable de Respuesta TPC y TFC	Valor Experimental	Valor Predicho	Porcentaje de error (%)
1	(mg GAE/100 g FW)	3054,77 ± 179,50	2938,06	3,82
	(mg CE/100 g FW)	1108,42 ± 78,48	1156,22	4,31
2	(mg GAE/100 g FW)	2867,48 ± 110,06	3053,21	6,48
	(mg CE/100 g FW)	1138,30 ± 64,42	1083,30	4,83

Nota. **(TPC)** contenido total de polifenoles, **(TFC)** contenido total de flavonoides, **(GAE)** equivalente de ácido gálico, equivalente **(CE)** catequina, **(FW)** base seca.

Madeira & Macedo, (2015); Montero-Calderon *et al.*, (2019), determinaron las condiciones óptimas para la EUA de polifenoles mediante la metodología de superficie de respuesta para cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), evaluaron las interacciones entre los factores experimentales mediante la función de deseabilidad determinando una potencia de 400W, tiempo de 30 min y porcentaje de solvente (50 %), para obtener 105,96 mg GAE/100 g FW, de manera similar Ordoñez-Gómez *et al.*, (2018), reportaron un contenido de polifenoles presentes en la cáscara de naranja valenciana de 1400 mg GAE/g FW de muestra seca. Estos valores son inferiores al obtenido en esta investigación ($3054,77 \pm 179,50$ mg GAE/100 g FW), esta gran diferencia en el TPC puede estar asociada a las condiciones de proceso como el mayor tiempo de exposición al ultrasonido, además, el gran tamaño de partícula disminuye la superficie de contacto entre el sólido y solvente inhibiendo la extracción, de igual manera, en el presente estudio las cáscaras fueron previamente sometidas a MAHD, que pudo contribuir en la deshidratación de la celulosa debilitando su estructura mecánica, facilitando el ingreso del solvente al interior de la célula (M'hiri *et al.*, 2016), situación que posiblemente permitió una mejor extracción de polifenoles y flavonoides.

Por su parte Poyraz *et al.*, (2021), optimizaron las condiciones de EUA para el TPC y TFC de (*Citrus unshiu*), obtuvieron como resultado tiempo de 90 min, amplitud 56 % y temperatura 50 °C, sin que se reporten bajos rendimientos de extracción, Gómez-Mejía *et al.*, (2019), realizaron la optimización para de tres cítricos, como resultado obtuvieron condiciones óptimas de EUA con tiempos de 5, 10 y 15 min, solvente etanol 40, 40 y 20 %, temperatura 90 °C para limón, naranja y mandarina, permitiendo una extracción de TPC de $3,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,4$ y $5,5 \pm 1,7$ (mg GAE/g DW), TFC de $17,6 \pm 0,6$, 18 ± 2 y $16,5 \pm 1,2$ (mg QE/ g DW). La temperatura de extracción es bastante elevada, pero el corto tiempo de exposición pudo ayudar a

que la degradación de los compuestos haya sido baja sin afectar en gran medida el rendimiento, en este estudio se reporta una temperatura óptima de extracción de 64,7 °C ligeramente alta, pero el corto tiempo de exposición (6 minutos) pudo compensar la eficiencia en el proceso de extracción de los compuestos bioactivos, según Ma *et al.*, (2009) cuando se manejan temperaturas levemente altas, el rendimiento de los compuestos fenólicos se ve afectada negativamente con el aumento del tiempo de extracción. Van Hung *et al.* (2020), encontraron condiciones óptimas mediante EUA del TPC y TFC de cáscaras de pomelo (*Citrus maxima*), las variables estudiadas encontradas fueron intensidad de ultrasonido 40 KHz, relación líquido:sólido 40 mL:g y tiempo 60 minutos, recuperando 99 mg CE/ g DW . Al comprar la relación con la encontrada en esta investigación 1:55,3 (g:mL) que es más alta, lo cual pudo favorecer el rendimiento de extracción debido a que la viscosidad fue baja aumentando la velocidad de disolución y difusión (Kumar *et al.*, 2021). De igual manera Maran y Priya, (2014), mencionan que un mayor volumen de disolvente puede disolver los componentes de forma más eficaz, lo que conduce a un mejor rendimientos de extracción de los compuestos de interés.

8.3.9. Determinación de la Capacidad Antioxidante (DPPH) utilizando las Variables Optimizadas

Las curvas patrón para (DPPH) y (ABTS) (Anexo 15a y 15b) y su respectiva correlación (Anexo 16). Realizando la extracción con las variables optimizadas, se determinó la capacidad antioxidante del extracto mediante DPPH reportando un valor de $2228,68 \pm 113,02$ μmol Trolox/100 g FW, equivalente ABTS $2233,442 \pm 111,720$ μmol Trolox/100 g FW. Estos valores son similares a los reportados por Gómez-Mejía *et al.* (2019) con valor de 2200 ± 3 μmol Trolox/ 100g DW. Por su parte Lachos-Perez *et al.* (2020) reportan una capacidad antioxidante de 576 ± 11 μmol Trolox/ 100 g de cáscara fresca, valores inferiores a los reportados en el

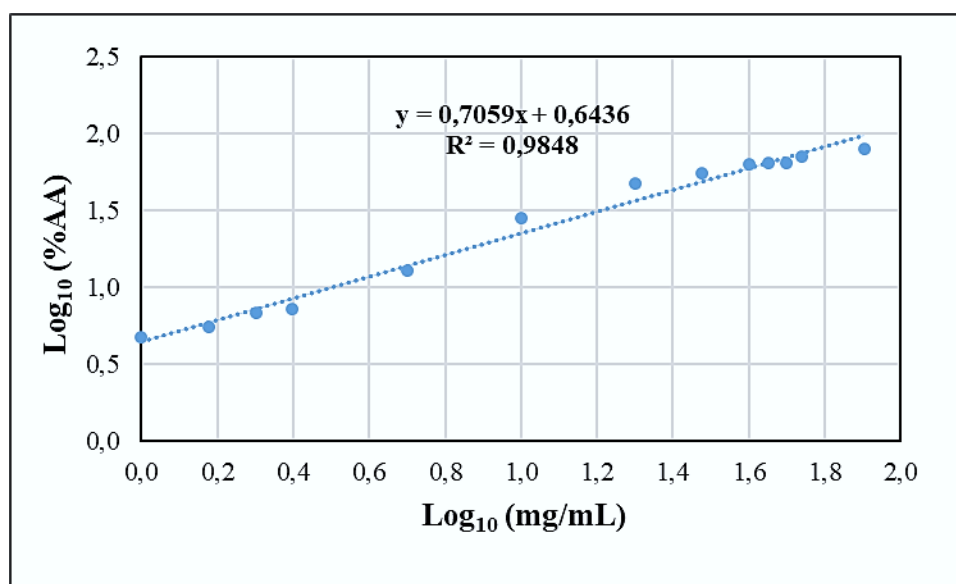
presente estudio. Los resultados anteriores demuestran que los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) presentan buena actividad antioxidante, situación que posiblemente se debe a un efecto sinérgico entre los diferentes antioxidantes presentes en el material vegetal, lo cual pudo potencializar este efecto. (Hegazy & Ibrahim, 2012) encontraron un porcentaje remanente de DPPH pasado 5 minutos de iniciada la reacción utilizando diferentes solventes de extracción, entre los cuales se encuentra el etanol con un valor de 78,14 % remanente de DPPH, para este estudio se reporta un 72,163 %, esta menor cantidad del radical restante puede ser explicada porque para este ensayo se dejó reaccionar por un periodo de 30 minutos lo cual favoreció la eliminación del radical DPPH.

8.3.10. Determinación EC50 para los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

Mediante el modelamiento matemático los resultados de EC50 (Figura 12) se ajustaron a un modelo de primer orden como lo planteado por (Katsampa *et al.*, 2015).

Figura 12

*Linealización de los datos para EC50 de los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*).*



Los datos se ajustaron a una ecuación lineal de la forma $y = mx + b$, con un valor R^2 de 0,984 con un valor de EC50 de 30,92 mg/mL equivalente a 477,54 mmol Trolox/100 g FW. Estos resultados demuestran que se necesita una concentración moderada para disminuir el radical DPPH en un 50 % de la concentración inicial, situación que posiblemente se debe a las interacciones sinérgicas entre los diferentes componentes antioxidantes presentes en la naranja. Además, este valor demuestra que los procesos posteriores como la MAHD y UEA al cual fueron sometidos no tuvieron un efecto sobre la extracción de antioxidantes presentes en la cáscara de naranja. La actividad antioxidante efectiva, se puede atribuir al alto contenido de polifenoles presente en los residuos de cáscaras de naranja, lo que convierte a estos extractos con un potencial adecuado en aplicaciones farmacéutica, industria alimentaria, nutracéutica .

9. Conclusiones

- Las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez titulable y porcentaje de humedad) de los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) de la plaza de mercado “El Potrerillo”, presentan resultados similares a los reportados en la literatura
- La técnica MAHD, mostró ser una alternativa eficaz para la recuperación de aceite esencial de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*), con rendimiento dos veces superior en comparación con la metodología de AV, además de reducir el tiempo, consumo energético y bajo gasto de solvente (Agua), convirtiéndola en una técnica alternativa “verde” de recuperación de aceite esencial.
- Durante la EUA los estudios cinéticos siempre deben evaluarse, ya que permiten determinar el tiempo de sonicación adecuado, puesto que una prolongada exposición de ultrasonido influye en el rendimiento y calidad del TPC y TFC presentes en las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*).
- La optimización mediante un DCC, permitió evaluar variables como temperatura, relación sólido:solvente y porcentaje de solvente con el objetivo de encontrar condiciones operativas que maximizaron simultáneamente las variables de respuesta (TPC y TFC) con un porcentaje de error entre el valor predicho y experimental inferior al 4,5 %.
- Los residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) generados en la plaza de mercado “El Potrerillo”, mostraron un alto potencial de aprovechamiento en la obtención de aceite esencial con un porcentaje rendimiento de $4,028 \pm 0,120$ DW y compuestos bioactivos como TPC de $3054,77 \pm 179,50$ mg GAE/100 g FW y TFC de $1108,42 \pm 78,48$ mg CE/100 g FW con altas perspectivas en el mercado y alto valor agregado.

10. Divulgación

Se presentó un poster titulado *“Recuperación de compuestos bioactivos presentes en residuos vegetales generados en plazas de mercado”* el en el **34 CONGRESO LATINOAMERICANO DE QUIMICA CLAQ2020** realizado en la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia, del 11 al 15 de octubre de 2021.









El comité científico del 34° Congreso Latinoamericano de Química CLAQ 2020, el XVIII COLACRO, el X COCOCRO, el II SPAE y el IV C2B2.

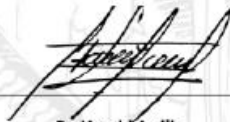
Certifican que el trabajo titulado:

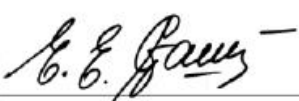
“RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN RESIDUOS VEGETALES GENERADOS EN PLAZAS DE MERCADO”

Fue presentado por: Gregory Ordoñez Gómez, William Alexander Díaz López, Vladimir Ernesto Vallejo-Castillo, Esteban Cabrera, Hernán Arteaga, Kimberly Yaríttza Vallejo Escobar, Oswaldo Osorio Mora

Presentado en modalidad póster

En el marco del 34° Congreso Latinoamericano de Química CLAQ 2020.
Llevado a cabo en la ciudad de Cartagena, Colombia del 11 al 15 de octubre de 2021.


Dr. Harold Ardila
Presidente Comité organizador


Dra. Elena Stashenko
Presidente Comité Científico
CLAQ 2020, XVIII COLACRO, X COCOCRO, II SPAE


Dra. Maricela Viola
Presidente Comité Científico IV C2B2

11. Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios similares con otros residuos de alta generación en la plaza de mercado “El Potrerillo”, para evaluar el potencial que ofrecen en la recuperación de compuestos de alto valor agregado y así ayudar a disminuir la contaminación ambiental por la mala disposición de estos residuos en los rellenos sanitarios.
- Realizar ensayos de extracción a escala piloto que permitirá conocer los rendimientos reales del proceso con el fin de garantizar las condiciones con las que se obtiene mayor eficiencia y efectividad del mismo.

Bibliografía

- Abdel-Shafy, H. I., & Mansour, M. S. M. (2018). Solid waste issue: Sources, composition, disposal, recycling, and valorization. *Egyptian Journal of Petroleum*, 27(4), 1275-1290.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2018.07.003>
- Agudelo, K., & Villada, C. A. (2018). *Grado de sensibilidad de la rentabilidad frente a las variaciones del precio de la naranja: Villa del Sol*. Universidad Católica de Colombia.
- Aguirre, O. M., Lozano, S. E., Ocampo, M. A., Torres, K. B., Martínez, A. del V., & Aparicio, A. J. (2006). Cambios en la actividad de α -Amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del maracuyá amarillo (*passiflora edulis* Var. *flavicarpa* degener). *Interciencia*, 31(10), 728-733.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006001000007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Al-Dhabi, N. A., Ponmurugan, K., & Maran Jeganathan, P. (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34(1), 206-213.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005>
- Aliakbarian, B., Fathi, A., Perego, P., & Dehghani, F. (2012). Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 65, 18-24.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2012.02.022>
- Alvarado, T. L., & Hernández, A. T. (2018). Revisión de alternativas sostenibles para el aprovechamiento del orujo de naranja. *Review of sustainable alternatives for the use of orange marc*, 5(2), 9-32. <https://doi.org/doi:http://dx.doi.org/10.23850/24220582.1393>
- Alzate T, L. M., González, D., Hincapié, S., Cardona S, B. L., Londoño-Londoño, J., & Jiménez-

- Cartagena, C. (2017). The profile of bioactive substances in ten vegetable and fruit by-products from a food supply chain in Colombia. *Sustainable Production and Consumption*, 9(4), 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2016.07.005>
- Amitic, C. I., Mart, M. M., Pechene, Q., & Popay, S. (2017). *Estado actual de los desperdicios de frutas y verduras en Colombia Current status of fruit and vegetable residues in Colombia* . 194-201.
- Angoy, A., Ginies, C., Goupy, P., Bornard, I., Ginisty, P., Sommier, A., Valat, M., & Chemat, F. (2020). Development of a green innovative semi-industrial scale pilot combined microwave heating and centrifugal force to extract essential oils and phenolic compounds from orange peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 61, 102338. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102338>
- Anticona, M., Blesa, J., Lopez-Malo, D., Frigola, A., & Esteve, M. J. (2021). Effects of ultrasound-assisted extraction on physicochemical properties, bioactive compounds, and antioxidant capacity for the valorization of hybrid Mandarin peels. *Food Bioscience*, 42, 101185. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101185>
- Arias Gallego, C. (2019). Autor(es). En U. de Antioquia (Ed.), *Estandarización de la extracción por arrastre con vapor de aceite de naranja para la asociación del ható en el municipio de Girardota* (pp. 1-28).
- Association of Analytical Communities. (2015). *Determinación de humedad en alimentos (Método de estufa universal y/o estufa de vacío)*.
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Găvan, A., Iacoviță, C., Pinela, J., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., Zhang, L., Lucini, L., Rocchetti, G., Tanase, C., Crișan, G., & Mocan, A. (2022). Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Thymus comosus* Heuff. ex

- Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105954. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105954>
- Barrera, M. F. (2015). *Métodos alternativos para la extracción y purificación de productos naturales de interés para la industria farmacéutica*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Berrospi, D. (2019). *Aprovechamiento integral de naranjas (Citrus sinensis) residuales de la variedad Washington Navel*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Braga, M. C., Silvério, E. C., & Ferreira de Oliveira, T. (2018). Curcuma longa L. leaves: Characterization (bioactive and antinutritional compounds) for use in human food in Brazil. *Food Chemistry*, 265, 308-315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.096>
- Brahmi, F., Mokhtari, O., Legssyer, B., Hamdani, I., Asehrou, A., Hasnaoui, I., Rokni, Y., Diass, K., Oualdi, I., & Tahani, A. (2021). Chemical and biological characterization of essential oils extracted from citrus fruits peels. *Materials Today: Proceedings*, 45, 7794-7799. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.587>
- Briones-Sornoza, H. R., & Guerrero-Intriago, D. A. (2019). Extracción de aceites esenciales de mandarina (citrus reticulata) y palo santo (Bursera Graveolens) por el método de arrastre de vapor. *Revista Científica INGENIAR: Ingeniería, Tecnología e Investigación*, 2(3), 14-23. <https://doi.org/10.46296/ig.v2i3.0007>
- Bustamante, J., van Stempvoort, S., García-Gallarreta, M., Houghton, J. A., Briers, H. K., Budarin, V. L., Matharu, A. S., & Clark, J. H. (2016). Microwave assisted hydro-distillation of essential oils from wet citrus peel waste. *Journal of Cleaner Production*, 137, 598-605. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.108>
- Caballero, Y. F., & Rodriguez, M. de los A. (2014). *Obtención de aceites esenciales a partir de*

cáscaras de mango (Mangifera indica L.) mediante técnica de destilación por arrastre por vapor. Universidad de San Buenaventura.

- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100-104. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2011.11.032>
- Castañeda Torres, S., & Rodriguez Miranda, J. P. (2017). Modelo de aprovechamiento sustentable de residuos sólidos orgánicos en Cundinamarca, Colombia. *Universidad y Salud*, 19(1), 116. <https://doi.org/10.22267/rus.171901.75>
- Chowdhury, P., & Viraraghavan, T. (2009). Sonochemical degradation of chlorinated organic compounds, phenolic compounds and organic dyes – A review. *Science of The Total Environment*, 407(8), 2474-2492. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2008.12.031>
- Chu, C. C., Chen, S. Y., Chyau, C. C., & Duh, P. Der. (2017). Antiproliferative effect of sweet orange peel and its bioactive compounds against human hepatoma cells, in vitro and in vivo. *Journal of Functional Foods*, 33, 363-375. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.051>
- Cordova, C., Guillén, J., & Tuesta, T. (2020). Solvent free microwave extraction of orange essential oil (*Citrus sinensis*), and the effect of the process conditions in its yield, composition and antimicrobial activity. *Revista Chilena de Nutricion*, 47(6), 965-974. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000600965>
- DANE. (2020). *Boletín Técnico, Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA)*. Área plantada, área en edad productiva, producción y rendimiento del cultivo%0Anaranja, según departamento
- Danish, M. S. S., Senjyu, T., Zaheb, H., Sabory, N. R., Ibrahimi, A. M., & Matayoshi, H. (2019). A novel transdisciplinary paradigm for municipal solid waste to energy. *Journal of Cleaner Production*, 233, 880-892. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.402>

- Dewi, I. A., Prastyo, A. M., & Wijana, S. (2018). Extraction of essential oil from baby Java orange (*Citrus sinensis*) solid waste using water and steam distillation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 131, 012054. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/131/1/012054>
- Drinić, Z., Pljevljakušić, D., Janković, T., Zdunić, G., Bigović, D., & Šavikin, K. (2021). Hydro-distillation and microwave-assisted distillation of *Sideritis raeseri*: Comparison of the composition of the essential oil, hydrolat and residual water extract. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 24, 100538. <https://doi.org/10.1016/J.SCP.2021.100538>
- Estudio de las Opciones de Reutilización Energética o Material de Cáscaras de Naranja*. (2012). Universidad San Francisco de Quito.
- Falla, A., & Sánchez, E. (2019). *Influencia de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles totales de un filtrante elaborado a base de cáscara de naranja (Citrus sinensis) y piña (Ananas comosus)*. Universidad Nacional del Santa.
- FAO. (2021). *Base de datos de pérdida y desperdicio de alimentos*. <https://www.fao.org/platform-food-loss-waste/flw-data/en/>
- Favela-Hernández, J. M. J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M. A., Esquivel-Ferriño, P. C., & Camacho-Corona, M. D. R. (2016). Chemistry and pharmacology of *Citrus sinensis*. *Molecules*, 21(2). <https://doi.org/10.3390/molecules21020247>
- Fazzino, F., Mauriello, F., Paone, E., Sidari, R., & Calabrò, P. S. (2021). Integral valorization of orange peel waste through optimized ensiling: Lactic acid and bioethanol production. *Chemosphere*, 271, 129602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129602>
- Ferrentino, G., Asaduzzaman, M., & Scampicchio, M. M. (2018). Current technologies and new insights for the recovery of high valuable compounds from fruits by-products. *Critical*

Reviews in Food Science and Nutrition, 58(3), 386-404.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1180589>

Foyain, E. E., Sánchez, L. L., & Manrique, A. V. (2018). *Estudio socioeconómico de la plaza de mercado del Municipio Dirardot*.

Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2016). Estimation of mass transfer coefficients of the extraction process of essential oil from orange peel using microwave assisted extraction. *Journal of Food Engineering*, 170, 136-143.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.025>

Fuentes-Barría, H., Muñoz, D., Aguilera, R., & Gonzáles, C. (2018). Influencia de los compuestos bioactivos de betarraga (*Beta vulgaris* L) sobre el efecto cardio-protector: Una revisión narrativa. *Revista Chilena*, 45(2), 178-182.

Galván D'Alessandro, L., Vauchel, P., Przybylski, R., Chataigné, G., Nikov, I., & Dimitrov, K. (2013). Integrated process extraction–adsorption for selective recovery of antioxidant phenolics from *Aronia melanocarpa* berries. *Separation and Purification Technology*, 120, 92-101. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2013.09.027>

Garcia-Castello, E. M., Rodriguez-Lopez, A. D., Mayor, L., Ballesteros, R., Conidi, C., & Cassano, A. (2015). Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1114-1122. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.024>

Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., & Jo, I. H. (2009). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4988-4994.

<https://doi.org/10.1021/jf9001439>

- Giaconia, M., Ramos, S. dos P., Pereira, C. F., Lemes, A. C., Vera De Rosso, V., & Cavalcante, A. R. (2020). Overcoming restrictions of bioactive compounds biological effects in food using nanometer-sized structures. *Food Hydrocolloids*, 107, 1-30.
- Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., & Madrid, Y. (2019). Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 295, 289-299.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.136>
- Gómez Estupiñan, M. A. (2016). *Propuesta en el Manejo Sostenible de Residuos Sólidos Orgánicos en Plaza de Mercado (caso: plaza de mercado La Concordia)*. Universidad Santo Tomás, Bucaramanga.
- Gómez, M. (2010). *Desarrollo y evaluación de estrategias analíticas para la caracterización de compuestos bioactivos en alimentos funcionales*. Universidad de Granada.
- Gómez, N., Sosa, M., & López, A. (2016). Extracción asistida con microondas de aceite esencial de acuyo (*Piper auritum*) y evaluación de su efecto antifúngico contra *Penicillium expansum*. *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*, 1(1), 173-178.
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/2/29.pdf>
- González-Velandia, K.-D., Daza-Rey, D., Caballero-Amado, P.-A., & Martínez-González, C. (2016). Evaluación de las propiedades físicas y químicas de residuos sólidos orgánicos a emplearse en la elaboración de papel. *Luna Azul*, 43(43), 499-517.
<https://doi.org/10.17151/luaz.2016.43.21>
- Gutiérrez, H., & De La Vara, R. (2008). Optimización de procesos con metodología de superficie de respuesta. En S. A. de C. V. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES (Ed.), *Análisis y diseño de experimentos* (Segunda Ed, pp. 384-430). Pablo E. Roig Vázquez.

- Harouna-Oumarou, H. A., Fauduet, H., Porte, C., & Ho, Y. S. (2007). Comparison of kinetic models for the aqueous solid-liquid extraction of Tilia sapwood a continuous stirred tank reactor. *Chemical Engineering Communications*, 194(4), 537-552.
<https://doi.org/10.1080/00986440600992511>
- Hegazy, A. E., & Ibrahim, M. I. (2012). Antioxidant Activities of Orange Peel Extracts. *World Applied Sciences Journal*, 18(5), 684-688.
<https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.18.05.64179>
- Himed, L., Merniz, S., Monteagudo-Olivan, R., Barkat, M., & Coronas, J. (2019). Antioxidant activity of the essential oil of citrus limon before and after its encapsulation in amorphous SiO₂. *Scientific African*, 6, 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00181>
- ICONTEC. (1999a). *Norma técnica colomabiana (NTC 4592): Productos de frutas y verduras, determinación del pH*.
- ICONTEC. (1999b). *Norma técnica colombiana (NTC 4623): Productos de frutas y verduras, determinación de acidez titulable*.
- ICONTEC. (2009). *Norma técnica colombiana (GTC 24): Gestión ambiental de residuos sólidos, guía para la separación en la fuente*.
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Godevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Kamal, G., Anwar, F., Hussain, A., Sarri, N., & Ashraf, M. (2011). Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels.

International Food Research Journal, 18(4), 1275-1282.

- Katsampa, P., Valsamedou, E., Grigorakis, S., & Makris, D. P. (2015). A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box-Behnken experimental design and kinetics. *Industrial Crops and Products*, 77, 535-543. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.039>
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2), 851-858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.046>
- Khemakhem, I., Ahmad-Qasem, M. H., Catalán, E. B., Micol, V., García-Pérez, J. V., Ayadi, M. A., & Bouaziz, M. (2017). Kinetic improvement of olive leaves' bioactive compounds extraction by using power ultrasound in a wide temperature range. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 466-473. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.010>
- Koşar, M., Dorman, H. J. D., & Hiltunen, R. (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chemistry*, 91(3), 525-533. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.06.029>
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2020.105325>
- Lachos-Perez, D., Baseggio, A. M., Torres-Mayanga, P. C., Ávila, P. F., Tompsett, G. A., Marostica, M., Goldbeck, R., Timko, M. T., Rostagno, M., Martinez, J., & Forster-Carneiro, T. (2020). Sequential subcritical water process applied to orange peel for the recovery

flavanones and sugars. *The Journal of Supercritical Fluids*, 160, 104789.

<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104789>

León, G., Osorio, M. del R., & Martínez, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742-750.

León Méndez, G., Osorio Fortich, M. del R., & Useche, E. S. R. M. (2015). Comparison of two methods for extraction of essential oil from citrus sinensis l. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742-750. <http://scielo.sld.cu>

Liu, H., Kang, Y., Zhao, X., Liu, Y., Zhang, X., & Zhang, S. (2019). Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. *Journal of Functional Foods*, 53, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.019>

Liu, Z., Li, H., Cui, G., Wei, M., Zou, Z., & Ni, H. (2021). Efficient extraction of essential oil from *Cinnamomum burmannii* leaves using enzymolysis pretreatment and followed by microwave-assisted method. *LWT*, 147, 111497. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111497>

Londoño, J., Rodrigues de Lima, V., Lara, O., Gil, A., Crecsynski, T. B., Arango, G. J., & Ramirez, J. R. (2010). Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chemistry*, 119(1), 81-87. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.075](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.075)

M'hiri, N., Ioannou, I., Paris, C., Ghoul, M., & Boudhrioua, N. (2016). Comparison of the Efficiency of Different Extraction Methods on Antioxidants of Maltese Orange Peel. *International Journal of Food and Nutritional Science*, 3(2), 1-13. <https://doi.org/10.15436/2377-0619.16.789>

Ma, Y. Q., Chen, J. C., Liu, D. H., & Ye, X. Q. (2009). Simultaneous extraction of phenolic

- compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57-62. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2008.04.012>
- Madeira, J. V., & Macedo, G. A. (2015). Simultaneous extraction and biotransformation process to obtain high bioactivity phenolic compounds from brazilian citrus residues. *Biotechnology Progress*, 31(5), 1273-1279. <https://doi.org/10.1002/btpr.2126>
- Mao, G., Wu, D., Wei, C., Tao, W., Ye, X., Linhardt, C. O., & Chen, S. (2019). Reconsidering conventional and innovative methods for pectin extraction from fruit and vegetable waste: Targeting rhamnogalacturonan I. *Trends in Food Science & Technology*, 94, 65-78.
- Maran, J. P., & Priya, B. (2014). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Nephelium lappaceum* L. Fruit peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 530-536. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.032>
- Márquez, C. J., Otero, C. M., Rojano, B. A., & Osorio, J. A. (2014). Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscosecha. *Temas Agrarios*, 19(2), 173-184.
- Martínez Girón, J., Díaz Escué, C. F., & Martínez Rojas, L. (2015). Propiedades hidrodinámicas de la fibra dietaria a partir de harina de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y mango (*Mangifera indica* L). *Ingenium*, 9(26), 11. <https://doi.org/10.21774/ing.v9i26.589>
- Matabajoy, L. L. (2018). *Planteamiento de estrategias para el manejo adecuado de basuras en la plaza de mercado El Potrerillo de la ciudad de Pasto*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD.
- Medina, N. C. (2017). *Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus latifolia)*.
- Montero-Calderon, A., Cortes, C., Zulueta, A., Frigola, A., & Esteve, M. J. (2019). Green

solvents and Ultrasound-Assisted Extraction of bioactive orange (*Citrus sinensis*) peel compounds. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52717-1>

Morales, P. (2011). *Vegetales silvestres de uso alimentario: Determinación de compuestos bioactivos y valorización de la capacidad antioxidante*. Universidad Complutense de Madrid.

Muñiz-Márquez, D. B., Martínez-Ávila, G. C., Wong-Paz, J. E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1149-1154. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2013.02.008>

Nishad, J., Saha, S., Dubey, A. K., Varghese, E., & Kaur, C. (2019). Optimization and comparison of non-conventional extraction technologies for *Citrus paradisi* L. peels: a valorization approach. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1221-1233. <https://doi.org/10.1007/S13197-019-03585-0/TABLES/5>

Obregon, E. W. (2018). *Análisis comparativo de la hidrodestilación con el arrastre de vapor para la extracción de aceites esenciales de cáscaras de naranja*. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

Ordoñez-Gómez, E. S., Reátegui-Díaz, D., & Villanueva-Tiburcio, J. E. (2018). Total polyphenols and antioxidant capacity of peel and leaves in twelve citrus. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 123-131. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.13>

Ozturk, B., Parkinson, C., & Gonzalez-Miquel, M. (2018). Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology*, 206, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.05.052>

- Ozturk, B., Winterburn, J., & Gonzalez-Miquel, M. (2019). Orange peel waste valorisation through limonene extraction using bio-based solvents. *Biochemical Engineering Journal*, 151, 107298. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2019.107298>
- Pace, S., Yazdani, R., Kendall, A., Simmons, C., & VanderGheynst, J. (2018). Impact of organic waste composition on life cycle energy production, global warming and Water use for treatment by anaerobic digestion followed by composting. *Raources, Conservation an Recycling*, 137, 126-135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2018.05.030>
- Pan, Y., Hao, Y., Chu, T., Li, C., Zhang, Z., & Zhou, Y. (2010). Ultrasonic-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from Yunzhi mushroom and its effect on osteoblast cells. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 922-926. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.01.007>
- Peiró, S. (2015). *Actividad antioxidante del té blanco y de los residuos de limón: optimización de la extracción y aplicaciones en carne y en envases activos*. Universitat de Barcelona.
- Pérez, J. (2019). *Obtención de aceite esencial y pectinas de la cascara de naranja y diseño de la unidad de extracción*. Fundación Universitaria Jorge Tadeo Lozano.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., Bourvellec, C. Le, Renard, C. M. G. C., & Chemat, F. (2012). Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 73-81. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2012.01.026>
- Pinto, L. P., & Suarez, M. J. (2016). *Propuesta para el manejo de residuos orgánicos producidos en la plaza de mercado de Chía (Cundinamarca)*.
- Poyraz, Ç., Küçükyıldız, G., Kırbaşlar, Ş. İ., Cigeroğlu, Z., & Şahin, S. (2021). Valorization of Citrus unshiu biowastes to value-added products: an optimization of ultrasound-assisted

extraction method using response surface methodology and particle swarm optimization.

Biomass Conversion and Biorefinery, 1-11. <https://doi.org/10.1007/S13399-021-01329-9/TABLES/6>

Prakash, J., Manikandan, S., Vigna, C., & Dinesh, R. (2017). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(1), 1145-1157. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.007>

Prakash Maran, J., Manikandan, S., Thirugnanasambandham, K., Vigna Nivetha, C., & Dinesh, R. (2013). Box–Behnken design based statistical modeling for ultrasound-assisted extraction of corn silk polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 604-611. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.020>

Qadariyah, L., Amelia, P. D., Admiralia, C., Bhuana, D. S., & Mahfud, M. (2017). Extraction of orange peel's essential oil by solvent-free microwave extraction. *AIP Conference Proceedings*, 1840, 1-8. <https://doi.org/10.1063/1.4982325>

Ramić, M., Vidović, S., Zeković, Z., Vladić, J., Cvejin, A., & Pavlić, B. (2015). Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 360-368. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.002>

Raspo, M. A., Vignola, M. B., Andreatta, A. E., & Juliani, H. R. (2020). Antioxidant and antimicrobial activity of citrus essential oils from Argentina and the United States. *Food Bioscience*.

Razola-Díaz, M. del C., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova, B., & Verardo, V. (2021). Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil.

- Food Chemistry*, 354, 129575. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129575>
- Razzaghi, S. E., Arabhosseini, A., Turk, M., Soubrat, T., Cendres, A., Kianmehr, M. H., Perino, S., & Chemat, F. (2019). Operational efficiencies of six microwave based extraction methods for orange peel oil. *Journal of Food Engineering*, 241, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.018>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reynertson, K. A., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2005). Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. *Ethnobotany Research and Applications*, 3(2), 025. <https://doi.org/10.17348/era.3.0.25-36>
- Rezzoug, S. A., & Louka, N. (2009). Thermomechanical process intensification for oil extraction from orange peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 530-536. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.05.008>
- Rivero-Pérez, M. D., Muñiz, P., & González-Sanjosé, M. L. (2008). Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2815-2822. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.014>
- Rodríguez-Rojo, S., Visentin, A., Maestri, D., & Cocero, M. J. (2012). Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 98-103. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2011.09.029>
- Rodríguez Riera, Z., Robaina Mesa, M., Jáuregui Haza, U. J., Blanco González, A., & Rodríguez-Chanfrau, J. E. (2014). Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de

compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. *Cenic*, 45(1), 139-147.

<https://www.researchgate.net/publication/270273043>

Şahin, S., & Şamli, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 595-602.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>

Sant'Anna, V., Brandelli, A., Marczak, L. D. F., & Tessaro, I. C. (2012). Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts. *Separation and Purification Technology*, 100, 82-87. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2012.09.004>

Santiago, B., Moreira, M. T., Feijoo, G., & González-García, S. (2020). Identification of environmental aspects of citrus waste valorization into D-limonene from a biorefinery approach. *Biomass and Bioenergy*, 143, 105844.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2020.105844>

Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., & Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. En *Nutrition* (Vol. 34, pp. 29-46). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.09.006>

Singh, M., Pandey, N., Agnihotri, V., Singh, K. K., & Pandey, A. (2017). Antioxidant, antimicrobial activity and bioactive compounds of *Bergenia ciliata* Sternb.: A valuable medicinal herb of Sikkim Himalaya. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(2), 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.04.002>

Stashenko, E. (2019). El desarrollo y perspectivas de la industria de aceites esenciales en Colombia. *Memorias Institucionales UIS*, 1(1), 1-15.

Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics*

- Sonochemistry*, 21(2), 706-715. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2013.09.005>
- Tao, Y., Zhang, Z., & Sun, D.-W. (2014). Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4), 1461-1469. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.01.029>
- Tchabo, W., Ma, Y., Engmann, F. N., & Zhang, H. (2015). Ultrasound-assisted enzymatic extraction (UAEE) of phytochemical compounds from mulberry (*Morus nigra*) must and optimization study using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 63, 214-225. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.053>
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Tomšik, A., Pavlić, B., Vladić, J., Ramić, M., & Vidović, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 502-511. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.11.005>
- Torrenegra, Miladys E., Granados, C., Osorio, M. R., & León, G. (2015). Comparación de la Hidro-destilación Asistida por Radiación de Microondas (MWHD) con Hidro-destilación Convencional (HD) en la Extracción de Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Información tecnológica*, 26(1), 117-122. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000100013>
- Torrenegra, Miladys Esther, Granados, C., & León, G. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Revista Cubana de Farmacia*, 52(1), 1-12.

- Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Informacion Tecnologica*, 24(3), 51-56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Ulloa, C. (2012). Estudio de las Opciones de Reutilización Energética o Material de Cáscara de Naranja. En *Universidad San Francisco de Quito*. Universidad San Francisco de Quito.
- Uriza, N. E. (2016). *Caracterización de los residuos sólidos domiciliarios en el sector urbano de la Ciudad de Tunja y propuesta de sensibilización para su separación en la fuente*. Universidad de Manizales.
- Van Hung, P., Yen Nhi, N. H., Ting, L. Y., Lan Phi, N. T., & Al Loman, A. (2020). Chemical Composition and Biological Activities of Extracts from Pomelo Peel By-Products under Enzyme and Ultrasound-Assisted Extractions. *Journal of Chemistry*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1043251>
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106(2), 804-810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>
- Yancu, D., & Sanderson, T. (2019). Essential oils disrupt steroidogenesis in a feto-placental co-culture model. *Reproductive Toxicology*, 90, 33-43.
- Yang, J., Martinson, T. E., & Liu, R. H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chemistry*, 116(1), 332-339. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.02.021>
- Ying, Z., Han, X., & Li, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*, 127(3), 1273-1279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.083>

Anexos

Anexo 1

Medición de pH y acidez titulable.



Anexo 2

Cantidad de aceite en (g) y rendimiento porcentual en (DW) mediante arrastre por vapor.

CN en fresco (g)	Cantidad de aceite (g)				Des. Esta	Rendimiento DW (%)				Des. Esta	CV
	R. 1	R. 2	R. 3	Prom		R. 1	R. 2	R. 3	Prom		
6000	8,122	7,230	6,920	7,424	0,624	0,553	0,492	0,471	0,505	0,042	8,406
4500	16,248	15,744	17,105	16,366	0,688	1,474	1,428	1,552	1,485	0,062	4,204
3500	15,680	14,818	14,544	15,014	0,593	1,829	1,728	1,696	1,751	0,069	3,948
3000	15,297	15,971	14,636	15,301	0,668	2,081	2,173	1,992	2,082	0,091	4,362
2500	12,575	12,275	11,600	12,150	0,499	2,053	2,004	1,894	1,984	0,082	4,110

Nota. Cáscara de naranja (CN), coeficiente de variación (CV).

Anexo 3

Prueba de normalidad y homocedasticidad (a) y análisis de varianza (b) para los resultados obtenidos mediante AV.

(a)

Técnica	Tratamiento	Prueba de Shapiro-Wilk			Prueba de Levene
		Estadístico	gl	Sig. (p)	Sig. (p)
ARRASTRE VAPOR	1	0,927	3	0,476	0,363
	2	0,978	3	0,718	
	3	0,918	3	0,444	
	4	1,000	3	0,982	
	5	0,953	3	0,584	

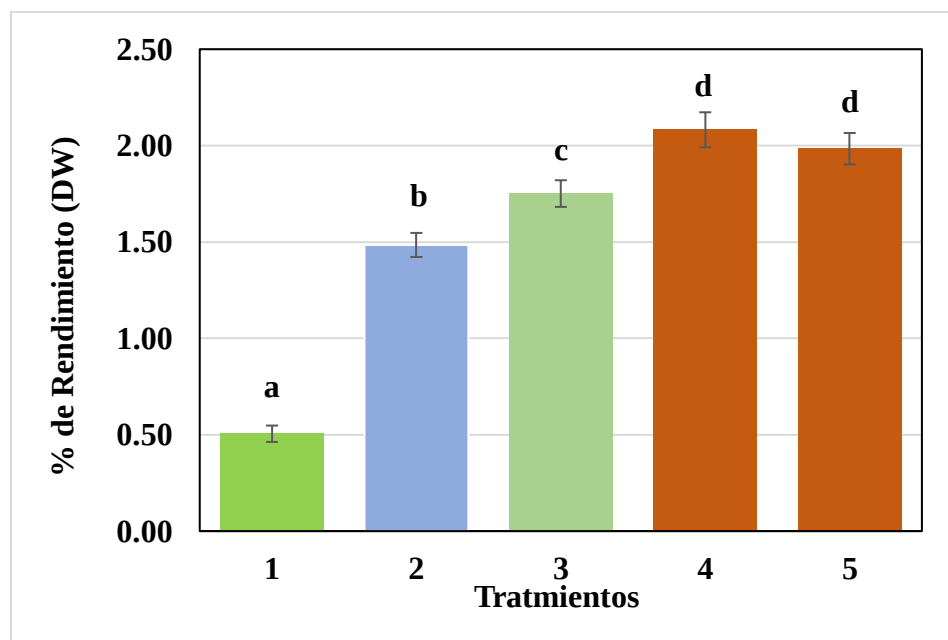
(a)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4,84245	4	1,21061	273,15	0,0001
Intra grupos	0,04432	10	0,004432		
Total (Corr.)	4,88677	14			

Anexo 4

Tratamientos de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (Citrus sinensis) mediante

Arrastre por Vapor.



Nota. Las barras con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 5

Cantidad de aceite en (g) y rendimiento porcentual en (DW) mediante MAHD.

Trat	Potencia (W)	Relación (g;mL)	Rendimiento en (g)			Rendimiento DW (%)			Prom	Des. Esta	CV
			R. 1	R. 2	R. 3	R. 1	R. 2	R. 3			
1	350	1:3	0,348	0,375	0,360	2,029	2,187	2,099	2,105	0,079	3,747
2	350	1:2	0,310	0,293	0,301	1,808	1,709	1,755	1,757	0,050	2,822
3	420	1:3	0,460	0,474	0,488	2,683	2,764	2,846	2,764	0,082	2,954
4	420	1:2	0,419	0,450	0,426	2,443	2,624	2,484	2,517	0,095	3,766
5	490	1:3	0,650	0,632	0,588	3,791	3,686	3,429	3,635	0,186	5,117
6	490	1:2	0,493	0,528	0,503	2,875	3,079	2,933	2,962	0,105	3,549
7	560	1:3	0,572	0,622	0,608	3,336	3,627	3,546	3,503	0,150	4,294
8	560	1:2	0,491	0,523	0,480	2,863	3,050	2,799	2,904	0,130	4,486
9	630	1:3	0,708	0,696	0,668	4,129	4,059	3,896	4,028	0,120	2,972
10	630	1:2	0,602	0,580	0,555	3,511	3,382	3,237	3,377	0,137	4,061
11	700	1:3	0,677	0,737	0,690	3,948	4,298	4,024	4,090	0,184	4,501
12	700	1:2	0,659	0,613	0,630	3,843	3,575	3,674	3,697	0,136	3,669

Nota. Para todos los tratamientos se utilizó 70 g de cáscara fresca, base seca (DW), coeficiente de variación (CV).

Anexo 6

Prueba de normalidad y homocedasticidad (a) y análisis de varianza (b) para los resultados obtenidos mediante MAHD.

(a)

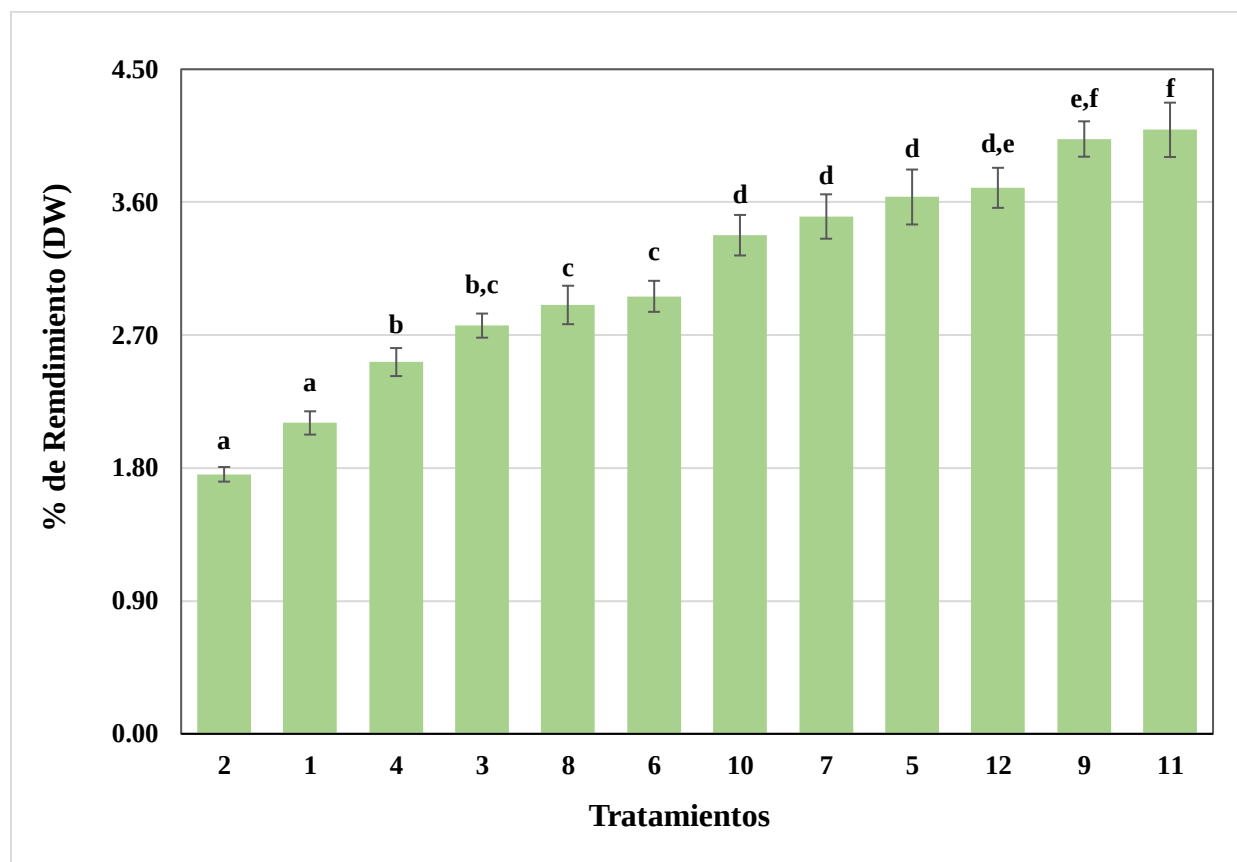
Método	Prueba de Shapiro-Wilk ($n \leq 50$)			Prueba de homogeneidad de varianzas basado en la media		
	Estadístico	gl	Sig. (p)	Estadístico de Levene	gl	Sig. (p)
MAHD	0,959	36	0,195	0,953	11	0,511

(b)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Potencia	15,7158	5	3,14316	193,41	0,0001
B:Relación	2,11848	1	2,11848	130,36	0,0001
INTERACCIONES					
AB	0,239817	5	0,0479634	2,95	0,0325
RESIDUOS	0,39003	24	0,0162512		
TOTAL (CORREGIDO)	18,4641	35			

Anexo 7

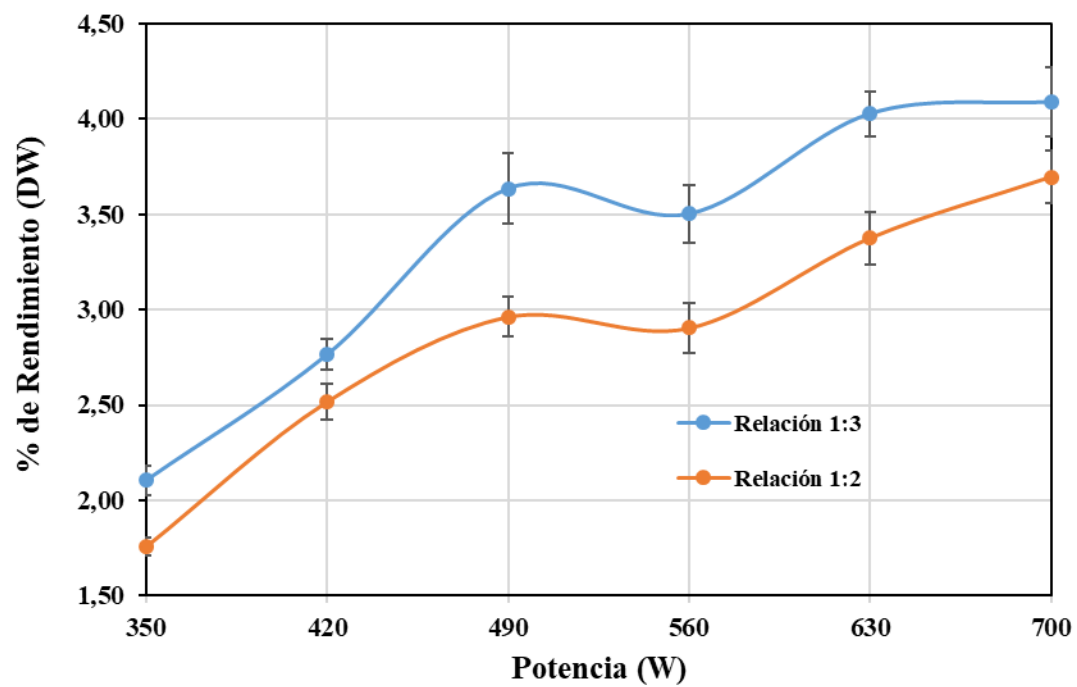
Tratamientos de extracción de aceite esencial de cáscara de naranja (Citrus sinensis) mediante MAHD.



Nota. Las barras que comparten igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 8

Comportamiento del % de rendimiento de extracción de aceite esencial de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) mediante MAHD con relación solido:solvente diferentes.



Anexo 9

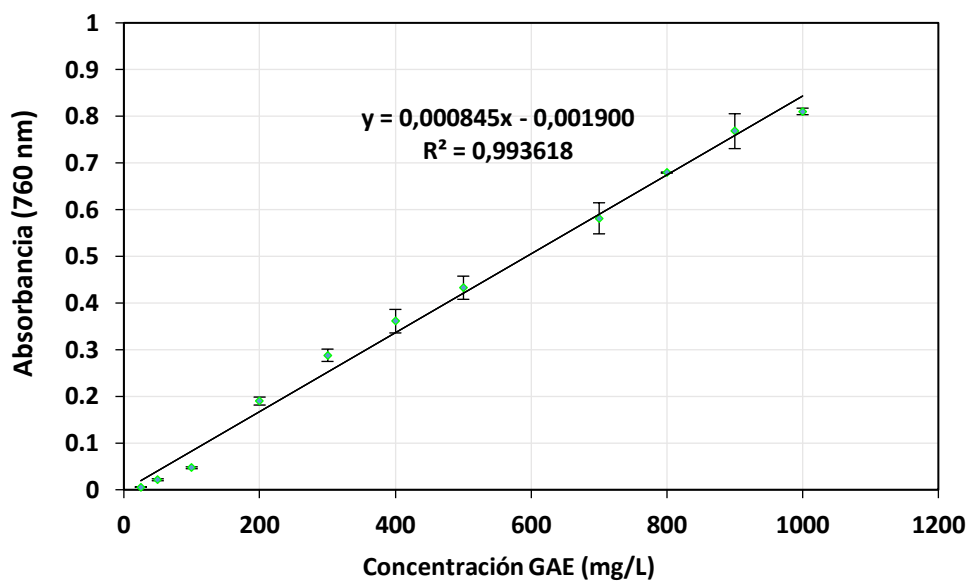
Comparación de rendimiento de extracción mediante AV y MAHD utilizando la prueba t para muestras independientes.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para igualdad de medidas		
		F	P	T	gl	Sig (p)
Rendimiento	Se asumen varianzas iguales	0,419	0,553	-22,478	4	0,0001
	No se asumen varianzas iguales			-22,478	3,726	0,0001

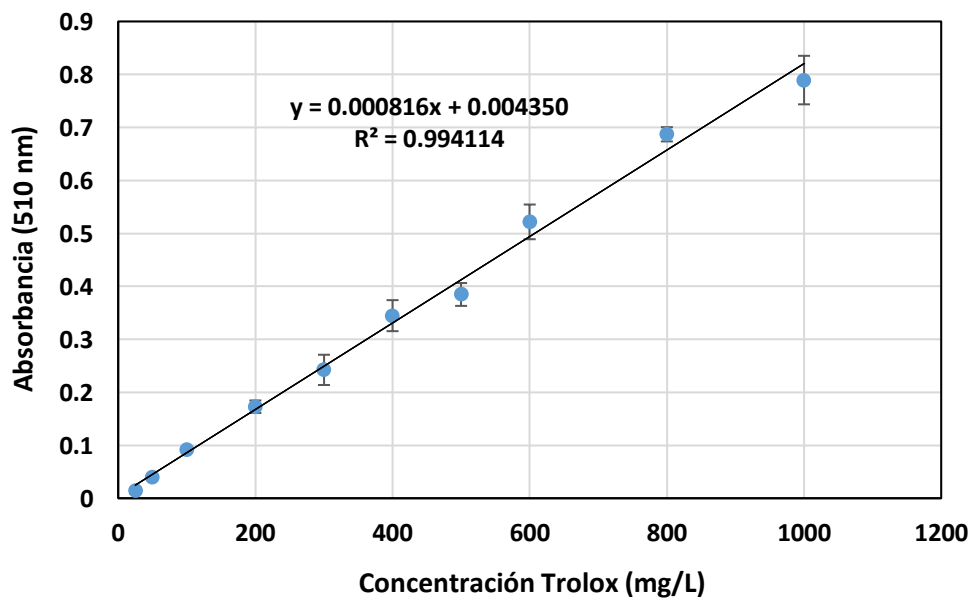
Anexo 10

Curva de calibración ácido gálico para TPC (a), curva de calibración catequina para TFC (b).

(a)



(b)



Anexo 11

Análisis de varianza para la cinética de extracción de residuos de cáscara de naranja (Citrus sinensis) para el TPC y TFC a frecuencias de (37 y 80 KHz) mediante UEA.

Variable de Respuesta	Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Media cuadrática	Razón-F	Valor-P
TPC (37 KHz) (mg GAE/100 g FW)	Entre grupos	97619,047	10	9761,905	3,559	0,0062
	Dentro de grupos	60351,022	22	2743,228		
	Total	157970,069	32			
TFC (37 KHz) (mg CE/100 g FW)	Entre grupos	43854,054	10	4385,405	10,471	0,0000
	Dentro de grupos	9213,489	22	418,795		
	Total	53067,543	32			
TPC (80 KHz) (mg GAE/100 g FW)	Entre grupos	439394,936	10	43939,494	8,405	0,0000
	Dentro de grupos	115017,220	22	5228,055		
	Total	554412,156	32			
TFC (80 KHz) (mg CE/100 g FW)	Entre grupos	40073,385	10	4007,339	4,133	0,0026
	Dentro de grupos	21329,505	22	969,523		
	Total	61402,890	32			

Anexo 12

Nivel de las variables de estudio y sus respectivas absorbancias en residuos de cáscara de naranja para el TPC (a) y TFC (b).

(a)

Trat	Solv (%)	Rela. (g:mL)	Tem (°C)	Absorbancia			Prom	Des. Esta	CV	TPC mg GAE/100 g FW
				Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3				
1	50	40	40	0,480	0,493	0,484	0,486	0,007	1,371	2294,120
2	30	20	55	0,901	0,847	0,921	0,890	0,038	4,303	2090,990
3	50	40	40	0,510	0,511	0,510	0,510	0,001	0,113	2409,390
4	83,636	40	40	0,423	0,430	0,416	0,423	0,007	1,655	2001,294
5	50	40	40	0,491	0,501	0,485	0,492	0,008	1,642	2325,280
6	50	73,636	40	0,311	0,307	0,295	0,304	0,008	2,736	2663,370
7	30	60	55	0,375	0,378	0,383	0,379	0,004	1,067	2691,194
8	30	20	25	0,812	0,854	0,801	0,822	0,028	3,401	1933,669
9	50	40	14,773	0,516	0,537	0,525	0,526	0,011	2,003	2482,603
10	50	40	40	0,501	0,481	0,528	0,503	0,024	4,686	2376,684
11	70	20	55	0,914	0,833	0,917	0,888	0,048	5,367	2087,096
12	50	6,364	40	0,657	0,677	0,616	0,650	0,031	4,784	1461,550
13	70	60	25	0,361	0,364	0,350	0,358	0,007	2,057	2548,671
14	50	40	65,227	0,582	0,616	0,652	0,617	0,035	5,676	2906,280
15	16,364	40	40	0,521	0,484	0,485	0,497	0,021	4,244	2345,531
16	70	20	25	0,956	0,887	0,858	0,900	0,050	5,592	2115,912
17	70	60	55	0,372	0,385	0,390	0,382	0,009	2,430	2716,895
18	30	60	25	0,340	0,327	0,321	0,329	0,010	2,949	2345,400

(b)

Trat	Solv (%)	Rela. (g:mL)	Tem (°C)	Absorbancia			Prom	Des. Esta	CV	TFC	
				Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3				mg CE/100 g	FW
1	50	40	40	0,152	0,148	0,151	0,150	0,002	1,385	774,867	
2	30	20	55	0,269	0,254	0,264	0,262	0,008	2,911	690,136	
3	50	40	40	0,143	0,140	0,141	0,141	0,002	1,081	726,218	
4	83,636	40	40	0,163	0,179	0,186	0,176	0,012	6,699	913,605	
5	50	40	40	0,142	0,146	0,131	0,140	0,008	5,561	717,209	
6	50	73,636	40	0,105	0,119	0,091	0,105	0,014	13,333	975,347	
7	30	60	55	0,130	0,113	0,122	0,122	0,009	6,990	929,868	
8	30	20	25	0,244	0,235	0,219	0,233	0,013	5,442	609,956	
9	50	40	14,773	0,145	0,145	0,143	0,144	0,001	0,800	742,434	
10	50	40	40	0,137	0,130	0,133	0,133	0,004	2,634	682,975	
11	70	20	55	0,240	0,234	0,224	0,233	0,008	3,474	609,956	
12	50	6,364	40	0,309	0,325	0,326	0,320	0,010	2,981	269,201	
13	70	60	25	0,105	0,107	0,104	0,105	0,002	1,450	797,435	
14	50	40	65,227	0,159	0,165	0,153	0,159	0,006	3,774	821,714	
15	16,364	40	40	0,158	0,182	0,162	0,167	0,013	7,684	866,759	
16	70	20	25	0,245	0,233	0,224	0,234	0,011	4,502	613,559	
17	70	60	55	0,124	0,167	0,148	0,146	0,022	14,726	1129,868	
18	30	60	25	0,105	0,106	0,108	0,106	0,002	1,437	805,543	

Anexo 13

Normalidad y homocedasticidad para el TPC y TFC aplicando un DCC mediante UEA.

Método	Prueba de Shapiro-Wilk ($n \leq 50$)			Prueba de homogeneidad de varianzas basado en la media		
	Estadístico	gl	Sig. (p)	Estadístico de Levene	gl	Sig. (p)
TPC	0,962	18	0,650	1,751	17	0,078
TFC	0,946	18	0,366	2,812	17	0,004

Anexo 14

Análisis de varianza del Diseño Central Compuesto (DCC), modelo cuadrático, para TPC (a) y para TFC (b).

(a)

Variable	SC	GL	MC	F Valor	p-valor Prob>F	
Modelo	1,860E+06	9	2,067E+05	13,25	0,0007	Significativo
A-Solvente	2156,53	1	2156,53	0,1383	0,7197	
B-Relación	1,228E+06	1	1,228E+06	78,76	< 0.0001	
C-Temperatura	1,345E+05	1	1,345E+05	8,62	0,0188	
AB	320,34	1	320,34	0,0205	0,8896	
AC	16535,36	1	16535,36	1,06	0,3333	
BC	18577,63	1	18577,63	1,19	0,3069	
A ²	47143,22	1	47143,22	3,02	0,1203	
B ²	1,272E+05	1	1,272E+05	8,16	0,0213	
C ²	1,919E+05	1	1,919E+05	12,30	0,0080	
Residual	1,248E+05	8	15595,88			No significativo
Falta de ajuste	1,168E+05	5	23360,33	8,80	0,0517	
Error puro	7965,36	3	2655,12			
Total	1,985E+06	17				

(b)

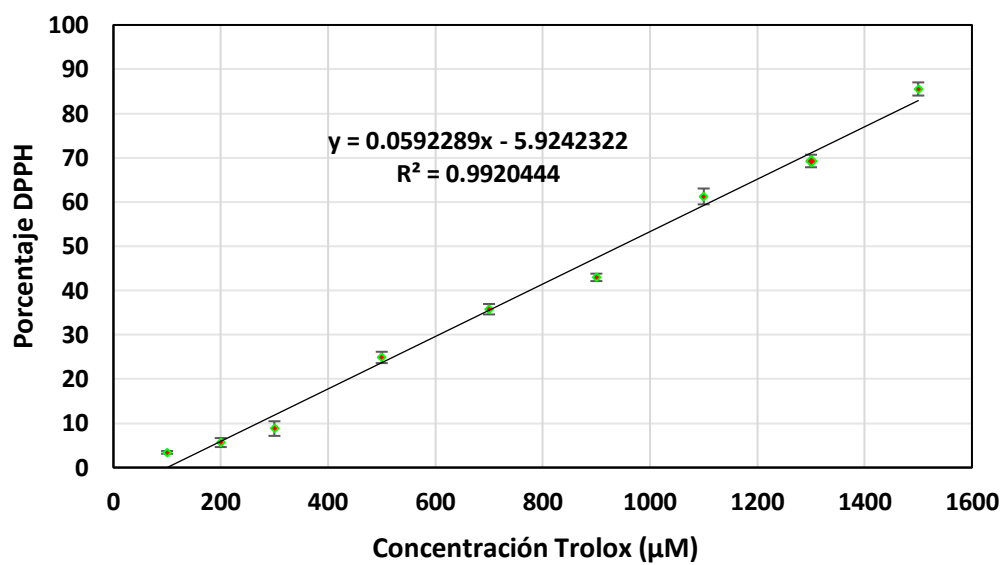
Variable	SC	GL	MC	F Valor	p-valor Prob>F	
Modelo	5,396E+05	9	59957,79	13,19	0,0007	Significativo
A-Solvente	2758,71	1	2758,71	0,6070	0,4583	
B-Relación	3,964E+05	1	3,964E+05	87,22	< 0.0001	
C-Temperatura	32543,48	1	32543,48	7,16	0,0281	
AB	9009,42	1	9009,42	1,98	0,1968	
AC	1932,07	1	1932,07	0,4251	0,5327	
BC	18067,13	1	18067,13	3,98	0,0813	
A ²	44929,24	1	44929,24	9,89	0,0137	
B ²	15603,04	1	15603,04	3,43	0,1010	
C ²	5780,01	1	5780,01	1,27	0,2921	
Residual	36357,44	8	4544,68			No significativo
Falta de ajuste	32042,85	5	6408,57	4,46	0,1243	
Error puro	4314,58	3	1438,19			
Total	5,760E+05	17				

Nota. (SC) Suma de cuadrados, (GL) grados de libertad, (MC) media de cuadrados.

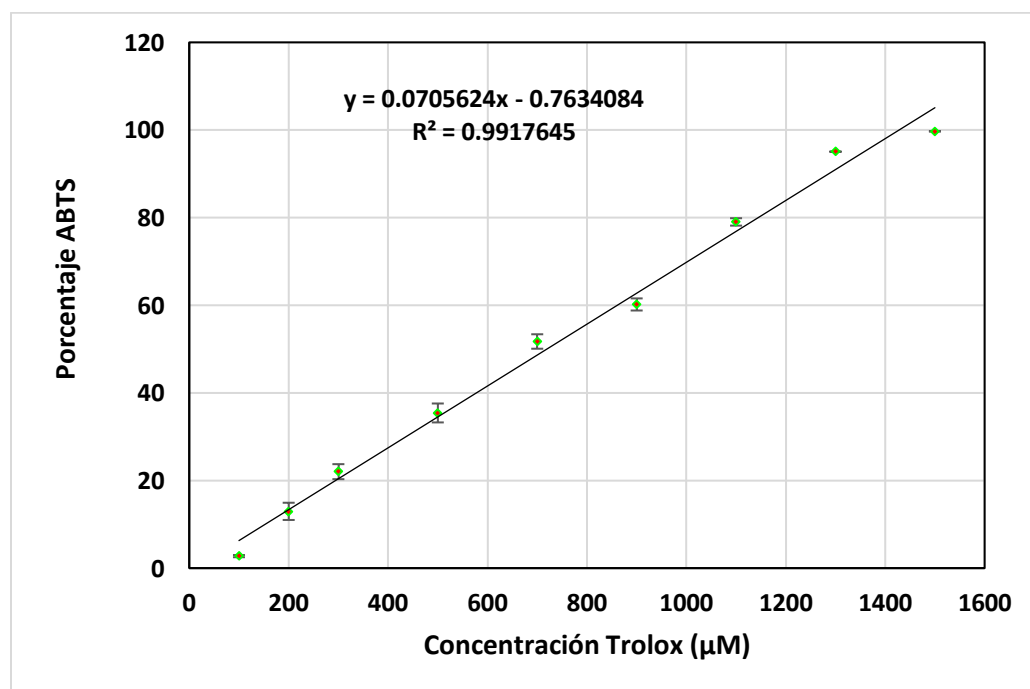
Anexo 15

Curva de calibración radical DPPH (a), curva de calibración radical ABTS (b).

(a)



(b)



Anexo 16

Curva de correlación entre los radicales DPPH y ABTS.

