



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**DESARROLLO DE UN PRODUCTO NATURAL PARA LIMPIEZA FACIAL A
PARTIR DE LOS ACEITES EXTRAÍDOS DE LAS SEMILLAS DE
NARANJA (*Citrus Sinensis*) Y MANDARINA (*Citrus Reticulata*)**



Asesor (a) Metodológico:
Prof. Viky Mujica

Autor(a):
PLÁCIDO, Norga

Tutor(a) Académico:
Prof. Viky Mujica

Valencia; Junio de 2011.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**DESARROLLO DE UN PRODUCTO NATURAL PARA LIMPIEZA FACIAL A
PARTIR DE LOS ACEITES EXTRAÍDOS DE LAS SEMILLAS DE
NARANJA (*Citrus Sinensis*) Y MANDARINA (*Citrus Reticulata*)**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO ANTE LA ILUSTRE UNIVERSIDAD DE CARABOBO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Autor(a):
PLÁCIDO, Norga

Valencia; Junio de 2011.

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, por ser mi guía y protector, por iluminarme y nunca apartarse de mí.

A mi padre José Francisco Plácido, aunque no estás físicamente, nunca olvidare tus consejos, el amor y el cariño que siempre me brindaste. Lo logramos papi... ¡Te quiero y te extrañare todos los días de mi vida!

A mi madre Olga Silva, por estar siempre a mi lado, apoyándome y brindándome su amor incondicional, este logro también es tuyo. ¡Te quiero mamá!

A mi tía Noris Silva, mi segunda madre, te debo tanto que estas líneas no son suficientes para expresar mi gratitud por tu apoyo, tu cariño y tu inmensa generosidad.

A mis abuelos, Rosa de Silva y Carlos Silva, sus enseñanzas las llevare conmigo toda la vida.

A Mauricio Marroquín, llegaste a mi vida en el momento indicado, para convertirte en ese ser único y especial que siempre soñé encontrar. ¡Te amo cielo!

A mis hermanos, Carlos José y Francisco Javier, por ser mis amigos y protectores, se que siempre podre contar con ustedes.

A mi tío Alí Silva, por siempre creer en mí.

A mis sobrinas, Franchesca, Leaneth, Nahomi y Nohely, por alegrarme la vida con sus risas y juegos ¡Las adoro!

Norga R. Plácido Silva

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODOPODEROSO, por bendecirme con las cualidades necesarias para alcanzar esta meta y darme la fortaleza suficiente para vencer los obstáculos que se me presentan en la vida.

A mi tutora, profesora Viky Mujica, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta investigación, por brindarme su apoyo y su valiosa colaboración. Su aporte y orientación fueron fundamentales, no habría resultado igual sin usted. ¡Muchas gracias!

A mi familia, gracias por creer en mí, por brindarme su apoyo y por haberme respaldado y ayudado en cada una de las actividades de este Trabajo Especial.

A Mauricio Marroquín, por estar a mi lado en todo momento, por creer en mí y darme aliento en los momentos difíciles. ¡Te amo!

A la Ing. Peggy Londoño y al Prof. Alberto Mieres Pitre, del Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería por su gran colaboración para llevar a cabo los análisis de este trabajo, especialmente a ti Peggy, por tu paciencia, dedicación y tu enorme disposición a ayudarme. ¡Gracias!

A la profesora Germania Marquina del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), por su valiosa colaboración y orientación.

A las profesoras Alírica Suarez y Goretti Rodríguez de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela (UCV), por su ayuda y orientación en la formulación de los excipientes del producto cosmético.

A la Dra. Zuly Ramos, por su orientación y colaboración en la adquisición de los excipientes necesarios para la formulación del producto cosmético.

A la profesora Yalitz Aular de la Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Farmacología de la Universidad de Carabobo, por su guía y apoyo, en la realización de las pruebas de toxicidad.

Al Sr. Alexis Reyes, Especialista de Servicios Analíticos de la Empresa Alimentos Polar, por su colaboración en la realización de la cromatografía de gases de los aceites

extraídos empleados en la realización del producto cosmético.

A la Ing. Teresa Hernández de la Empresa Jugos Yaracuy, por su colaboración en la adquisición de la materia prima empleada en esta investigación.

A mis amigas Nataly y Crisbel, por brindarme su amistad, por ser mis compañeras de estudio y brindarme su apoyo incondicional en lo académico y en lo personal. ¡Las quiero muchísimo! Les deseo lo mejor!

Norga R. Plácido Silva

RESUMEN

El propósito de esta investigación es el desarrollo de un producto natural para limpieza facial a partir de los aceites extraídos de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*), cuya disponibilidad en el país es alta y son de escasa utilización.

Para llevarlo a cabo, se realizó el análisis proximal de las semillas de *Citrus Sinensis* y *Citrus Reticulata*, según las Normas COVENIN.

Para extraer los aceites de las semillas antes mencionadas, se emplearon las técnicas: destilación por arrastre con vapor y la extracción por solvente; esta última, resultó la más apropiada para la extracción. Las mejores condiciones de extracción para ambas semillas fueron: masa de semillas 5 gramos, tamaño de partículas 0,5 mm y tiempo de extracción 5 horas, obteniéndose un rendimiento de $55,085 \pm 0,005\%$, para las semillas de mandarina y de $56,656 \pm 0,005\%$, para las semillas de naranja, esto se obtuvo analizando el diseño experimental 2^3 , mediante el software estadístico STATGRAPHICS 5.1.

Los aceites se sometieron a pruebas de calidad e identidad según las normas COVENIN, se determinó por cromatografía de gases que el aceite de *Citrus Sinensis*, está constituido por 34,2% de ácidos grasos saturados y 65,8% de ácidos grasos insaturados y el aceite de *Citrus Reticulata*, está constituido por 30,9% de ácidos saturados y 69,1% de ácidos insaturados, se evaluó la toxicidad dérmica y ocular de ambos aceites, mediante las normas OECD TG 404 y OECD TG 405, respectivamente, se observó que no son irritantes de la piel, pero si moderadamente irritantes al contacto con los ojos. Posteriormente se realizó la formulación base del producto cosmético, empleando una emulsión O/W, y adicionando los aceites extraídos. Finalmente se determinó la estabilidad física, análisis microbiológico y mediante las normas OECD TG 404 y OECD TG 405, se comprueba que el producto cosmético, no irrita la piel, pero si irrita levemente los ojos.

Palabras clave: *semillas, extracción, aceite, producto cosmético.*

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. Descripción del problema.....	2
1.2. Formulación del problema.....	4
Situación actual.....	4
Situación deseada.....	5
1.3. Objetivos.....	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación.....	6
1.5. Limitaciones.....	6
CAPÍTULO II. MARCO REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes.....	8
2.2. Generalidades de la naranja.....	13
Naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	13
Variedades.....	14
Características botánicas.....	15
Condiciones climáticas.....	16
2.3. Generalidades de la mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	17
Descripción.....	17
Variedades.....	17
Condiciones climáticas.....	17
2.4. Composición química de los ácidos grasos.....	19
Ácidos grasos.....	19
2.5. Métodos de extracción.....	22
Destilación por arrastre con vapor.....	22

	Pág.
Extracción por solvente empleando el equipo Tipo Soxhlet.....	22
Disolventes.....	22
Tamaño de partículas.....	23
Relación masa de sustrato- volumen de solvente.....	23
2.6. Diseño Factorial.....	24
2.7. Emulsiones.....	25
Tipo de emulsiones.....	26
Compuestos empleados en las emulsiones.....	27
2.8. Toxicología.....	29
Toxicidad Aguda.....	29
Toxicidad Oftálmica u ocular.....	29
Toxicidad dérmica.....	30
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	31
3.1. Tipo de investigación.....	31
3.2. Caracterización de los aceites de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>) y mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	32
Revisión de las normas COVENIN para la realización de análisis proximales.....	32
Compresión de los métodos propuestos en la normativa.....	32
Aplicación de la técnica de análisis proximal para la determinación de:	
Porcentaje de humedad.....	32
Porcentaje de cenizas.....	33
Porcentaje de aceite.....	34
Porcentaje de fibra cruda.....	34
Porcentaje de proteínas.....	35
Porcentaje de calcio.....	35
Carbohidratos.....	36
3.3. Establecimiento de las variables más importantes que influyen en el proceso de extracción.....	36
Planificación del experimento.....	37

	Pág.
Diseño del experimento.....	38
Diseño del instrumento recolector de datos.....	40
3.4. Extracción de los aceites de a partir de las semillas de naranja y mandarina a nivel de laboratorio.....	41
Extracción de los aceites a nivel de laboratorio.....	41
Análisis de resultados.....	42
Valoración estadística.....	42
3.5. Realización del perfil lípidico de los aceites de las semillas de naranja y mandarina.....	43
Revisión de las normas COVENIN.....	43
Determinación del perfil lípidico o perfil de ácidos grasos.....	43
3.6. Caracterización de los aceites crudos.....	44
Revisión de las normas COVENIN.....	44
Densidad relativa.....	44
Índice de refracción.....	44
Índice de saponificación.....	45
Índice de yodo.....	45
Índice de acidez.....	46
Índice de peróxido.....	47
Propiedades organolépticas.....	47
Pruebas de toxicidad.....	47
3.7. Elaboración del producto natural para limpieza facial, siguiendo una formulación base.....	51
selección del método para la elaboración del producto cosmético.....	51
Selección del tipo de formulación para el producto facial.....	51
Obtención del producto facial a escala de laboratorio.....	53
3.8. Caracterización del producto cosmético natural.....	54
Determinación de las propiedades físicas del producto.....	54
Estabilidad del producto.....	55
Determinación del pH.....	55

	Pág.
Determinación de propiedades organolépticas.....	55
Estudio microbiológico.....	55
Comportamiento biológico o sensibilidad.....	56
CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	57
4.1. Caracterización de los aceites de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>) y (<i>Citrus Reticulata</i>).....	57
4.2. Establecimiento de las variables importantes que intervienen en el proceso de extracción.....	59
4.3. Extracción de los aceites de las semillas de naranja y mandarina a nivel de laboratorio.....	61
4.4. Realización del perfil lípidico de los aceites de naranja y mandarina.....	66
4.5. Caracterización de los aceites extraídos.....	68
4.6. Elaboración del producto cosmético para limpieza facial.....	74
4.7. Caracterización del producto cosmético para limpieza facial.....	76
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
APÉNDICES A. Métodos operatorios.....	89
APÉNDICES B. Datos experimentales.....	93
APÉNDICES C. Cálculos típicos.....	103
APÉNDICES D. Informe.....	116
APÉNDICES E. Procedimiento para el uso del Statgraphics 5.1.....	121

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág.
2.1. Nomenclatura de los ácidos grasos.....	20
2.2. Propiedades fisicoquímicas y termodinámicas del hexano.....	21
2.3. Datos de un diseño factorial sin interacción.....	24
2.4. Datos de un diseño factorial sin interacción.....	25
3.1. Normativas empleadas para la determinación del análisis proximal de las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>) y mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>)	33
3.2. Niveles para la extracción del aceite por método de destilación por arrastre con vapor.....	39
3.3. Niveles para la extracción del aceite por método de extracción por solventes volátiles empleando equipo tipo Soxhlet.....	39
3.4. Variables experimentales involucradas en la extracción del aceite de las semillas de naranja y mandarina empleando la destilación por arrastre con vapor.....	40
3.5 Variables experimentales involucradas en la extracción de aceite de las semillas de naranja y mandarina empleando la extracción Soxhlet.....	40
3.6. Características de la columna del cromatógrafo de gas empleada para la determinación del perfil de ácidos grasos de la muestra.....	43
3.7. Análisis empleados para la caracterización de los aceites crudos de las semillas de naranja y mandarina.....	46
3.8. Escala descrita por Drize para la evaluación de eritemas en la piel.....	48
3.9. Escala descrita por Drize para la evaluación de edemas en la piel.....	49
3.10. Escala para la evaluación final del índice de irritabilidad dérmica.....	49
3.11. Escala para la evaluación de la opacidad en la cornea.....	50
3.12. Escala para la evaluación de la reacción a luz.....	50
3.13. Escala para la evaluación del enrojecimiento.....	50
3.14. Escala para la evaluación de inflamación o abscesos.....	50
3.15. Componentes de las fases oleosa y acuosa para la elaboración de la emulsión O/W como base del producto cosmético.....	53

Tabla N°	Pág.
4.1. Análisis proximal de las semillas de naranja y mandarina.....	58
4.2. Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>) para distintas combinaciones de niveles de las variables involucradas.....	62
4.3. Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>) para distintas combinaciones de niveles de las variables involucradas.....	63
4.4. Análisis estadístico de varianza para la extracción de aceite de la semilla de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	64
4.5. Mejores condiciones de extracción para el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	64
4.6. Análisis estadístico de varianza para la extracción de aceite de la semilla de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	65
4.7. Mejores condiciones de extracción del aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	66
4.8. Perfil de ácidos grasos de los aceites de las semillas mandarina (<i>Citrus reticulata</i>) y naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	67
4.9. Propiedades fisicoquímicas del aceite crudo de la semilla.....	69
4.10. Evaluaciones obtenidas en el test de irritabilidad dérmica del aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	70
4.11. Evaluaciones obtenidas en el test de irritabilidad dérmica del aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	71
4.12. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	73
4.13. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	74
4.14. Composición química del producto cosmético para limpieza facial.....	75

Tabla N°	Pág.
4.15. Propiedades físicas del producto cosmético.....	76
4.16. Estabilidad del producto cosmético por estrés acelerado.....	77
4.17. Propiedades organolépticas del producto cosmético.....	78
4.18. Propiedades microbiológicas del producto cosmético.....	78
4.19. Evaluación en el test de irritabilidad dérmica del producto cosmético.....	79
4.20. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del producto cosmético.....	80
B.1. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de humedad en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	93
B.2. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de humedad en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	93
B.3. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de cenizas en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	93
B.4. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de cenizas en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	94
B.5. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de grasa en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	94
B.6. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de grasa en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	94
B.7. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de fibra cruda en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	95
B.8. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de fibra cruda en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	95
B.9. Datos experimentales para la determinación del porcentaje del contenido de proteínas en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>)...	95
B.10. Datos experimentales para la determinación del porcentaje del contenido de proteínas en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	96
B.11. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de calcio en las semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	96

Tabla N°	Pág.
B.12. Datos experimentales para la determinación del porcentaje de calcio en las semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	96
B.13. Variables que intervienen en la extracción del aceite de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	97
B.14. Variables que intervienen en la extracción del aceite de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	98
B.15. Datos experimentales para la determinación de la densidad de relativa en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	99
B.16. Datos experimentales para la determinación de la densidad de relativa en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	99
B.17. Datos experimentales para la determinación del índice de refracción en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	99
B.18. Datos experimentales para la determinación del índice de refracción en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	99
B.19. Datos experimentales para la determinación del índice de saponificación en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	100
B.20. Datos experimentales para la determinación del índice de saponificación en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	100
B.21. Datos experimentales para la determinación del índice de iodo en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	100
B.22. Datos experimentales para la determinación del índice de iodo en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	101
B.23. Datos experimentales para la determinación del índice de acidez en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	101
B.24. Datos experimentales para la determinación del índice de acidez en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	101
B.25. Datos experimentales para la determinación del índice de peróxido en el aceite de semillas de mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>).....	101
B.26. Datos experimentales para la determinación del índice de peróxido en el aceite de semillas de naranja (<i>Citrus Sinensis</i>).....	102

Tabla N°	Pág.
B.27. Datos experimentales para la determinación de la densidad del producto natural.....	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág.
1.1. Frutos cítricos en árbol: la izquierda naranja y a la derecha mandarina.....	2
2.1. Plantación de naranja.....	14
2.2. Mandarinas en árbol.....	17
2.3. Equipo de destilación por arrastre con vapor.....	21
2.4. Equipo de Extracción Tipo Soxhlet.....	22
2.5. Tipos de emulsiones.....	26
3.1. Diagrama del diseño experimental para la extracción del aceite de semillas de naranja y mandarina.....	38
3.2. Elaboración del producto cosmético.....	54
4.1. Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica con aceite de semillas de mandarina.....	71
4.2. Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica con aceite de semillas de naranja.....	72
4.3. Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular con aceite de semillas de mandarina.....	73
4.4. Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular con aceite de semillas de naranja.....	75
4.5. Prueba de estabilidad del producto cosmético.....	78
4.6. Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica del producto cosmético	79
4.7. Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular del producto cosmético...	80
D.1. Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de mandarina.....	116
D.2. Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de naranja.....	117
E.1. Definición del diseño de experimento factorial.....	121
E.2. Definición del diseño. Selección del diseño factorial.....	122
E.3. Definición de los niveles de los factores experimentales.....	122
E.4. Definición de la variable de respuesta.....	123
E.5. Diseño experimental. La imagen (a) muestra la selección de análisis de los datos del diseño ya existente y la (b) muestra la selección de la	

ubicación del diseño de experimento.....	124
E.6. Selección de datos a analizar.....	124

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un especial interés por el cuidado personal, de allí la existencia de diversos laboratorios orientados a la fabricación de productos cosméticos y farmacéuticos, muchos de estos productos son elaborados con materias primas de origen sintético, en su mayoría importados elevando el costo del producto en cuestión. Por tales razones, se está retomando el uso de los métodos naturales para el cuidado y mantenimiento de la piel.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente se plantea el desarrollo de un producto cosmético natural para limpieza facial a partir de los aceites extraídos de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*), semillas de las que se tiene gran disponibilidad en el país y que son desechadas en procesos donde solo se aprovechan otras partes del fruto.

Para llevar a cabo este objetivo, se realiza la caracterización de las semillas, se extraen los aceites de las semillas antes mencionadas a las mejores condiciones de extracción, se caracterizan dichos aceites para finalmente elaborar el producto cosmético siguiendo una formulación base e incorporando los aceites obtenidos como ingredientes activos en el preparado y realizando las pruebas específicas que evalúan la calidad del producto terminado.

El presente trabajo de investigación consta de cinco capítulos. El primer capítulo comprende la descripción y el planteamiento del problema, en donde se establecen los objetivos específicos que contribuyen al logro del objetivo general, así como los motivos que justifican la realización de este trabajo y las limitaciones del mismo. En el segundo capítulo se hace una reseña de las bases teóricas que sustentan la investigación; seguido del capítulo tres, el cual contiene las metodologías empleadas para alcanzar cada uno de los objetivos planteados. En el capítulo cuatro se muestra la discusión de los resultados obtenidos y finalmente se presentan las conclusiones más relevantes y recomendaciones para trabajos posteriores.

CAPÍTULO I

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En esta sección se presentan la descripción y formulación del problema, la situación actual y la deseada, así como también, la justificación y las limitaciones que conllevan al cumplimiento de los objetivos de este trabajo de investigación.

1.1 Descripción del problema.

La naranja (*Citrus Sinensis*) y la mandarina (*Citrus Reticulata*) son dos de las frutas de mayor riqueza en nuestro país, no solo porque existen múltiples industrias dedicadas a su total aprovechamiento, como, por ejemplo, alimenticias, de preparación de bebidas refrescantes y zumos, la obtención de pectinas, el beneficio de la esencia y los concentrados que sirven de materia prima a muchas otras empresas; sino también porque se cosechan durante todo el año.



Figura 1.1. Frutos cítricos en árbol: a la derecha mandarina y la izquierda naranja

Sin embargo existe un producto potencial, como es el caso del aceite contenido en la semilla, el cual ha recibido poca atención. En Venezuela la mayoría de los aceites aromáticos que se utilizan a nivel comercial son importados, entre ellos se tienen el aceite de naranja, mandarina, limón, etc; (Ojeda, 2005); por lo tanto los costos asociados aumentan su valor comercial y en efecto de los productos que se elaboran a partir de los mismos. En los últimos años la producción de *Citrus Sinensis* y *Citrus Reticulata* en nuestro país alcanza más de las 378mil y 93mil TM

respectivamente (FAO, 2008), siendo Yaracuy, Carabobo y Aragua los mayores estados productores, en donde las semillas representan aproximadamente un 1,99g de cada fruto que no es aprovechado.

En trabajos anteriores se han estudiado las propiedades de la actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina (Martínez, 2003) y las propiedades bactericidas del Aceite de la semilla de limón (Guevara, 2006). Asimismo, es conocido que las oleaginosas contienen algunos componentes antioxidantes que contrarrestan los efectos negativos de los radicales libres, debido a las insaturaciones del aceite (Fereidoon, 1997). Por tales motivos en la Universidad de Carabobo, la Escuela de Ingeniería Química y específicamente en la Línea de Extracción de Aceites de Semillas Oleaginosas del Departamento de Ingeniería Química, ha surgido la inquietud de estudiar la aplicación de los aceites extraídos de semillas vegetales en el área de la industria cosmética, para ello se desea desarrollar un producto natural, cuyo ingrediente principal será el aceite extraído de las semillas antes mencionadas. Dichas semillas se obtienen de los residuos de la elaboración de zumos en industrias donde se usan estas frutas como materia prima.

Los aceites aromáticos y vegetales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante diferentes métodos como: prensado al frío, destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación), extracción en continuo con solventes volátiles empleando equipo tipo Soxhlet,, enfleurage y con fluidos supercríticos.

Para la obtención de los aceites antes mencionados, se utilizarán semillas de plantaciones venezolanas que pertenecen a la familia de las *Citrus Sinensis* y *Citrus Reticulata*, la extracción se llevará a cabo por el método de *Destilación por arrastre con vapor* y *extracción por solventes volátiles empleando equipo tipo Soxhlet*.

La *destilación por arrastre con vapor* es una técnica que consiste en la separación de sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros no volátiles. Se necesita cierta cantidad de muestra, esta se pondrá en contacto con vapor de agua, el aceite se evaporará y al disminuir la temperatura de ebullición este condensa y luego se separa. Mientras que la *extracción por solvente*, no es más que una operación de transferencia de masa, donde un disolvente o mezcla de estos, extraen selectivamente

uno o varios solutos que se hallan dentro de una matriz sólida. Al igual que en destilación, existen una serie de parámetros fisicoquímicos, tales como la viscosidad del disolvente, los coeficientes de solubilidad de los solutos, los coeficientes de difusión, las temperaturas de ebullición, etc., que son de importancia fundamental para el diseño del equipo y el éxito del proceso de extracción. En este tipo de extracción se utiliza un equipo tipo Soxhlet que consta de una cámara de extracción, un depósito para el disolvente y un sistema de condensación de vapores.

Siendo las semillas un producto de desecho que se pierde en cantidades significativas, representa una fuente adicional para la obtención de aceites aromáticos, razón por la cual se plantea la extracción de aceites aromáticos a partir de las semillas de naranja y mandarina, aplicando métodos apropiados con la finalidad de desarrollar un producto natural de limpieza facial incorporando los aceites obtenidos.

1.2 Formulación del problema.

Como la naranja (*Citrus Sinensis*) y la mandarina (*Citrus Reticulata*) son frutos que se cosechan en grandes cantidades en nuestro país y siendo la semilla un producto de desecho, resulta viable extraer y aprovechar el aceite contenido en la misma para su uso potencial como conservador, desinfectante, antibacterial, etc., con el propósito de desarrollar un producto natural para limpieza facial.

1.2.1 Situación actual.

Generalmente los aceites extraídos de los cítricos, utilizan como materia prima la cáscara del fruto, ignorando otras partes del mismo, tales como las semillas, de las cuales se dispone de una cantidad considerable y que representan un producto de desecho que no es aprovechado. Dichas semillas constituyen una fuente de aceites que mediante un proceso de extracción adecuado, pudieran incorporarse en la elaboración de productos cosméticos.

De no estudiar la factibilidad de este proceso de extracción se estaría desaprovechando la oportunidad de obtener un producto muy costoso, reduciendo los costos de adquisición del mismo y además de eliminar un desecho que pudiera constituir un problema ambiental.

1.2.2 Situación deseada.

Se desea obtener los aceites de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*) con la metodología adecuada y definir las condiciones de operación apropiadas para su extracción, empleando procesos eficientes y de bajo costo; con la finalidad de establecer la técnica más apropiada en la obtención del aceite. Asimismo evaluar sus efectos cosméticos para elaborar un producto natural para limpieza facial.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Desarrollar un producto natural para limpieza facial a partir de los aceites extraídos de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*) obtenidos por el método de extracción más conveniente.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar las semillas de naranja y mandarina mediante análisis físico-químicos para conocer sus propiedades.
2. Establecer variables importantes que influyen en el proceso de extracción de los aceites de naranja y mandarina, a fin de determinar las mejores condiciones y etapas del proceso.
3. Extraer los aceites a partir de las semillas de naranja y mandarina a nivel de laboratorio, con el fin de determinar el rendimiento del proceso de extracción.
4. Realizar el perfil lípidico de los aceites de naranja y mandarina con el propósito de conocer su composición.
5. Caracterizar los aceites extraídos con el fin de determinar sus propiedades fisicoquímicas y toxicidad.
6. Elaborar el producto natural de limpieza, siguiendo una formulación base, incorporando los aceites obtenidos de las semillas seleccionadas.
7. Caracterizar el producto cosmético natural para determinar sus propiedades fisicoquímicas, comportamiento biológico y estudio microbiológico.

1.4 Justificación

La realización de este trabajo de investigación posee cierta relevancia a nivel social; ya que implica la disminución de la materia orgánica contaminante que se desecha, disminuyendo el impacto ambiental.

En cuanto a la conveniencia y beneficios que brinda el desarrollo de esta investigación se tiene el aprovechamiento de un producto de desecho, además de que se llevarán a cabo prácticas que permitirán reforzar conocimientos y habilidades adquiridas durante la carrera universitaria, específicamente en las áreas de fisicoquímica y operaciones unitarias.

En cuanto a las implicaciones prácticas se ofrece una aplicación distinta de los aceites obtenidos de las semillas de naranja y mandarina; así, como también, la elaboración de un producto cosmético natural que a futuro puede motivar el desarrollo de una industria nacional de cosméticos que tendrá como componente principal los aceites antes mencionados.

De igual manera, esta investigación, presenta un aporte metodológico y teórico, ya que ofrece nuevas teorías y estrategias para la formulación de productos cosméticos naturales y acerca de la extracción de aceites a partir de los órganos vegetales mencionados con anterioridad. Además permitirá ampliar conocimientos en el área de extracción de aceites que pueden resultar de interés para investigaciones futuras.

1.5 Limitaciones

La falta de equipos y materiales para la realización de las extracciones, como para la caracterización e identificación de los componentes de los aceites obtenidos. El tiempo de extracción también podría ser otra variable limitante, debido a que los períodos de obtención del aceite podrían ser largos. Desde el punto de vista del recurso humano, se presenta una limitación por tratarse de una investigación individual, ya que pueden presentarse problemas a la hora de la toma de datos, ya que además se requiere supervisar el buen funcionamiento del equipo. Así como los costos asociados a la investigación y caracterización de los aceites y del producto cosmético.

Evaluar la efectividad del producto cosmético está limitada, no solo por el tiempo, sino también por las implicaciones legales que puede acarrear hacer pruebas de aplicación en las personas.

CAPÍTULO II

II. MARCO TEÓRICO-REFERENCIAL.

En esta sección se incluyen todas aquellas bases teóricas que fundamentan esta investigación, así como los trabajos de investigación que guardan relación con el tema en estudio.

2.1 Antecedentes.

Maradey P., Rodríguez, J. (2008), realizan su investigación basada en el desarrollo de un preparado facial con fines exfoliantes a partir del aceite extraído de una semilla vegetal. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.

Esta investigación tiene como objetivo general determinar la factibilidad de desarrollar un preparado facial con fines exfoliantes, a partir de una semilla vegetal cuya disponibilidad en el país es alta y es de escasa utilización. Para llevar cabo el cumplimiento de dicho objetivo, se realiza la extracción del órgano vegetal, utilizando el método sólido-líquido continuo o Soxhlet, el cual es utilizado generalmente con fines analíticos a escala de producción en la industria de los procesos naturales. En base a los rendimientos obtenidos se elabora un preparado facial, siguiendo una formulación base, incorporando el aceite obtenido de las semillas seleccionadas. En conclusión se usan semillas de cucúrbita para la extracción del aceite y el preparado obtenido fue una emulsión de aceite en agua con partículas exfoliantes suaves para uso diario.

Este antecedente tiene similitud con la investigación a realizar, en la utilización de la extracción tipo Soxhlet, en la realización de los distintos análisis fisicoquímicos y microbiológicos y en la incorporación del aceite en la elaboración del preparado facial. La principal diferencia radica en que esta investigación se realiza la extracción a partir de dos semillas que pertenecen a la familia de los cítricos, como lo son la naranja y la mandarina, utilizando no solo la extracción por Soxhlet, sino también la extracción por arrastre con vapor, con el fin de elaborar el producto natural de limpieza facial, incorporando los aceites antes mencionados.

Reyes A., Castro H., *et al.*, (2007), desarrollan su trabajo de investigación fundamentada en la obtención de extractos de jengibre (*Zingiber officinale*) mediante métodos tradicionales y dióxido de carbono supercrítico. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Química. Facultad de ciencias.

Este trabajo tiene como objetivo principal comparar el rendimiento del aceite extraído de los rizomas de jengibre obtenidos por arrastre con vapor y Soxhlet con el obtenido por fluidos supercríticos, CO_2 a 13,8MPa y 40°C. Los resultados muestran un rendimiento de 0,95% para la extracción por EFS, 4,94% para Soxhlet y 0,09% por arrastre con vapor. El análisis de los extractos obtenidos mediante EFS y extracción por Soxhlet permitió obtener un extracto libre de transgresiones térmicas y oxidativas, el cual contenía cantidades importantes de compuestos con actividad antioxidante y urticante.

Las semejanzas con el trabajo que es lleva a cabo es la aplicación o utilización de los métodos de extracción por arrastre con vapor y Soxhlet, la caracterización de los aceites obtenidos y la evaluación de los rendimientos de los mismos.

Las diferencias que tiene con este trabajo es la utilización de un órgano vegetal diferente y que luego de la caracterización de los aceites se les dará una aplicación en el área de la cosmética.

Ríos, L., Lopera G., *et.al.* (2007), basan su trabajo de investigación en la extracción y caracterización del aceite de cardamomo (*Elletaria Cardamomum*). Universidad de Antioquia. Medellín. Grupos de procesos químicos aplicados.

Esta investigación tiene como finalidad principal la extracción y caracterización del aceite de cardamomo aplicando tres métodos: destilación por arrastre con vapor, hidrodestilación y extracción con solventes. Los componentes de la ceite se identificaron y se cuantificaron por el método de cromatografía de gases, espectrometría de masa y detector TCD. Los rendimientos obtenidos están alrededor de 4,7% por arrastre con vapor, 3,7% para hidrodestilación y 6,5% para la extracción con solventes. Los principales componentes identificados son: cineol, acetato de terpinilo, linalol y β -pineno. Con dichos resultados se logran definir las principales variables operacionales para dimensionar una planta piloto para la extracción de aceites. La similitud de este antecedente con el trabajo que se realiza es la aplicación del método

de extracción por arrastre con vapor y la caracterización de los métodos obtenidos para determinar su composición. En cuanto a las diferencias o discrepancias con este trabajo de investigación se tienen, el órgano vegetal del cual se realiza la extracción y la determinación de las posibles aplicaciones en el área de la cosmética a partir de la caracterización de los aceites extraídos de las semillas de naranja y mandarina.

Carreño, S. (2006), desarrollan su investigación en la evaluación del proceso de extracción y de las propiedades físico-químicas del aceite de la pulpa del fruto del aguacate. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.

El objetivo general de este trabajo de investigación consiste en evaluar el proceso de extracción y de las propiedades físico-químicas del aceite de la pulpa de aguacate con miras futura aplicaciones a nivel industrial tanto alimenticias como cosméticas. Para el alcance de este objetivo se lleva a cabo la extracción del aceite utilizando extracción tipo Soxhlet, caracterizando los aceites crudos y refinando los mismos para luego establecer comparaciones en base a los resultados obtenidos, las principales conclusiones que se derivan de esta investigación son que el tamaño de las partículas de pulpa de la cual se extraen los aceites influye en el proceso de extracción afectando de manera directa y contundente el rendimiento del mismo, así como también el volumen de solvente y la cantidad de pulpa alimentada al proceso.

En cuanto a la similitud que presenta con el trabajo que se desarrolla se tiene la utilización del método de extracción con solvente utilizando el equipo Soxhlet, la caracterización y refinación de los aceites extraídos. Mientras que entre las diferencias se encuentran la utilización de un órgano vegetal diferente, en esta investigación se utilizara como materia prima las semillas de los cítricos naranja y mandarina, además se realizara la extracción del aceite utilizando las técnicas de destilación por arrastre con vapor y extracción con solvente utilizando el equipo Soxhlet, finalmente los aceite obtenidos serán incorporados en la elaboración de un producto cosmético para limpieza facial.

Guevara E., Herrera T., *et.al.* (2006), fundamentan su investigación en el estudio preliminar de las propiedades de la semilla de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*

swingle) para sus posibles usos. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías.

El objetivo de este trabajo es estudiar o evaluar las propiedades de la semilla de limón mexicano para diferentes usos. Se experimentó con técnicas de extracción del aceite, prensado en caliente a 60°C y por el método soxhlet (Egan et al., 1991), utilizando tres solventes (hexano, éter y etanol). Se consideraron propiedades físicas, composición, toxicidad en roedores (pruebas dosis letal y media y toxicidad crónica) y actividad germicida). Como conclusiones se tiene que la semilla contiene 21% de proteínas, 39% de aceite vegetal y 29% de fibra, especialmente lignina en cantidad considerable, lo que hace viable su uso como materia prima para nutraceuticos o alimentos funcionales. La toxicidad de la semilla resultó nula por lo que es apta para el consumo humano. Se obtuvieron propiedades clave de la semilla de limón mexicano (*Citrus aurantifolia swingle*) para su posible aprovechamiento en la industria de alimentos. Se encontró cierta efectividad germicida para *Candida albicans* y par *Echerichia coli*, por lo que puede ser usada como ingrediente germicida.

Las semejanzas de este antecedente con el trabajo en desarrollo son: la utilización del método de extracción Soxhlet y la caracterización del aceite obtenido para verificar sus propiedades físicas, composición y toxicidad. En cuanto a las diferencias se tiene que los estudios realizados para determinar las propiedades del limón solo abarcan las áreas de la industria y del control de plagas, mientras que la caracterización que se llevara a cabo en este trabajo está dirigida a las posibles aplicaciones que pueden tener los aceites extraídos en el área de la cosmética.

Gil, E., Sáez, A. (2005), desarrollan su investigación basada en la evaluación a escala piloto del proceso industrial para la obtención del aceite esencial de cardamomo bajo la filosofía “cero emisiones”. Universidad EAFIT. Grupo de Investigación de procesos ambientales y biotecnológicos. Medellín. Colombia.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar a nivel de planta piloto el proceso industrial para la obtención del aceite esencial de cardamomo, bajo la filosofía de “cero emisiones”, mediante la normalización del proceso productivo y la proposición de alternativas de aprovechamiento de los subproductos generados, en investigaciones

posteriores se podrá extrapolar los resultados obtenidos a un gran número de plantas que posee el país que tienen este potencial. Además se realizan extracciones a diferentes condiciones de proceso con el fin de analizar los datos de rendimiento en el aceite esencial y evaluar la calidad y componentes del mismo contra patrones reportados anteriormente. Como conclusiones se presenta el diseño y funcionamiento del equipo. Los resultados muestran la posibilidad de obtener un rendimiento del aceite esencial de cardamomo del 5%, dato que concuerda con el reportado por la literatura.

Para la extracción del aceite se utiliza el método de arrastre por vapor, lo representa una similitud con el estudio a desarrollar en esta nueva investigación, también presenta una similitud en la realización de las extracciones a varias condiciones de operación para evaluar su rendimiento y en la caracterización de los aceites extraídos para determinar su composición y corroborar los resultados obtenidos.

La diferencia con este trabajo radica en la incorporación de otro método de extracción la extracción tipo Soxhlet y la utilización de semillas y no de frutos para la obtención de los aceites esenciales que posteriormente se incluirán en la elaboración del producto cosmético facial que se desea desarrollar.

Montañés, L. (2005), realiza su investigación basada en el desarrollo de un bioinsecticida a partir de la azadiractina (*Azadirachtina indica*) presente en el aceite de Neem. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.

La finalidad de esta investigación es desarrollar un insecticida a partir de azadiractina presente en el aceite de Neem, para ello se debe identificar las propiedades insecticidas de la *Azadirachtina indica*, realizar el proceso de extracción del aceite de la semilla de Neem, comprobar la estabilidad del mismo, experimentar la actividad biológica de *Azadirachtina indica*, preparar la formulación del insecticida. La extracción del aceite de las semillas de Neem, se realiza por prensado al frío. Con este estudio se pretende estudiar la toxicidad de este insecticida para el control del *Aedes aegyptis*. Al finalizar estas pruebas se procedió a establecer la formulación más adecuada para el repelente en presentación crema, para lo cual se prepararon diversas fórmulas variando el contenido de ingrediente activo y demás componentes. Luego, se les realizó una prueba de repelencia, empleándose cuatro voluntarios, a los cuales se

les colocó la formulación a probar en el antebrazo derecho y en el antebrazo izquierdo, la crema base de la formulación. Obteniéndose que atendiendo a la necesidad detectada y a la viabilidad puesta de manifiesto a través de los resultados obtenidos, se realizó un bioinsecticida, específicamente un repelente en presentación crema, utilizando como agente activo la azadirachtina contenida en el aceite de neem, el cual impidió la picadura de los insectos en 99% en la prueba de repelencia inmediata, 86% después de la primera hora y 75% una vez transcurridas dos horas de la aplicación del producto, suministrando dosis de 42 μ g de azadirachtina, lo que demuestra su potencial de acción en el control de diferentes plagas, especialmente en mosquitos *Aedes aegypti* adultos.

Entre las semejanzas de este trabajo con el que se realiza se tienen la caracterización de los aceites para comprobar sus propiedades físico-químicas para determinar las posibles aplicaciones que estos puedan tener y que la extracción del aceite se hace a partir de una semilla. En lo referente a las diferencias se tiene el órgano vegetal del cual se hace la extracción, en el antecedente se usa la semilla de Neem y en esta investigación se usan semillas de naranja y mandarina, para extraer el aceite el autor usa el método de prensado al frío y en este trabajo se usará la extracción por arrastre con vapor y la extracción tipo Soxhlet y finalmente la aplicación que se le dará al producto final para la nueva investigación los aceites obtenidos están destinados a la preparación de un producto para limpieza facial.

2.2. Generalidades sobre la naranja.

Naranja (*Citrus Sinensis*)

Una de las frutas más favorecidas por la preferencia del hombre en el mundo, la naranja dulce, o simplemente naranja, durante muchos años fue conocida como *Citrus Aurantium var. Sinensis* L., ya que era considerada una forma de la naranja agria. Todavía no está universalmente aceptado que sea una especie distinta, *C. Sinensis* Osbeck, pero generalmente se acepta como si lo fuera, ver Figura 2.1. Uno de sus primeros nombres regionales registrado fue el persa *narang*, de la cual se deriva el nombre en español, *naranja*, y el portugués, *laranja*. En algunas zonas del Caribe y

América Latina, la fruta se llama *naranja de China*, *China dulce*, o, simplemente, *China*. En inglés se conoce como *orange*, *sweet orange*, o *round orange* (Guerrero, 2008).



Figura 2.1. Plantación de naranja

Variedades.

Las principales naranjas cultivadas para fines comerciales en Venezuela son:

- **Valencia:** Es la variedad de naranja que tiene mayor demanda a nivel mundial y una de las más cultivadas en el país. Da frutos de tamaño mediano, corteza un tanto gruesa, dura y coriácea. Superficie lisa, ligeramente áspera, jugo abundante y menos de seis (6) semillas por fruto.
- **Pineapple:** Esta variedad le sigue en importancia a la Valencia como naranja de jugo, tanto para consumo fresco como para uso industrial. Sus frutos son de tamaño medianos, esféricos, área basal a veces deprimida y radialmente estriada, Corteza algo gruesa, superficie finamente punteada y poco áspera, presenta de 10 a 21 semillas, es de maduración intermedia entre la “Valencia” y la “California” y tiene buena calidad para la industria.

- **Criolla:** En Venezuela se denomina naranja criolla a una serie de selecciones de naranjas comunes que se propagan ya sea por injerto o por semillas. Los árboles son vigorosos, grandes, con cierta cantidad de espinas y, aquellos sobre pie franco son además susceptibles a la enfermedad conocida como Gomosis. Los frutos son pequeños con muchas semillas y con maduración precoz. Prácticamente toda la producción se destina a la industria.
- **California** (Washington Navel o Bahía): Es la única variedad de ombligo cultivada en Venezuela. Las naranjas son grandes y de corteza gruesa. Se diferencian fácilmente de las otras por tener ombligo o fruto secundario rudimentario en la parte basal. Por lo general no tienen semillas. Es la variedad de naranjas que obtiene generalmente el precio de venta en el mercado.
- **Parson Brown:** Esta variedad es cultivada en el país en menor escala que las anteriores tiene frutos globosos y compactos, de superficie rugosa, corteza medianamente gruesa con buen contenido de jugo de buena calidad. Presenta entre diez (10) y veinte (20) semillas y es maduración temprana, los árboles son vigorosos y productivos.
- **Hamlin:** Esta variedad es poco cultivada en el país. Sus frutos son más bien pequeños, ligeramente ovalados y de corteza gruesa. Presenta entre cinco (5) y diez (10) semillas. Es de maduración temprana. Los árboles son relativamente pequeños.
- **Naranjas Ácidas:** Entre las naranjas ácidas está la naranja agria, que se usaba como patrón, y otras ácidas que se usan como ornamentales o para la extracción del aceite de neroli de las flores. (Guerrero, 2008).

Características botánicas

Las naranjas pertenecen a la familia Rutáceas y pertenecen al género Citrus. Las especies de este género son arbustos o árboles de color verde, con hojas simples y coriáceas y pecíolos generalmente alados, flores bancas y fragantes, el cual se forman en brotes que se producen a través de yemas localizadas en las axilas de las hojas. Son cultivos perennes, de crecimiento erecto ramificado que crece hasta 12 mt. de alto y 25 cm. de diámetro dependiendo de la especie, produce de los 3 a 5 años

dependiendo de su propagación (semilla poliembriónica o injerto) (Guerrero, 2008).

Condiciones climáticas.

- **Latitud:** 36 °C latitud norte y sur, con condiciones climáticas tropicales.
- **Temperatura:** No debe ser baja, ya que afectaría el desarrollo del cultivo, es decir 13 °C y 30 °C, la más óptima es de 23 °C. con una temperatura menor a 8 °C. produce obstrucción de la planta y con una mayor a 36 °C. deteriora el fruto, temperaturas de 0 °C – 12 °C, determina la coloración verde del fruto debido al equilibrio de acidez y azúcares (clima templado). La temperatura interviene en el ritmo de las floraciones y el crecimiento, los árboles en invierno se mantienen latentes y crecen y florecen en el transcurso del verano (Guerrero, 2008).
- **Alturas:** Alturas superiores a los 500 msnm (Guerrero, 2008).
- **Precipitación:** 1200 – 1500 mm./año bien distribuidos durante el año, son suficientes para cubrir las necesidades del cultivo, en aquellas zonas donde prevalece la sequía el riego es indispensable para que el cultivo se desarrolle sin ningún problema. El naranjo agrio es menos exigente al riego, mientras que el naranjo dulce se desarrolla bien en altas precipitaciones, son exigentes en riego (Guerrero, 2008).

2.3 Generalidades de la Mandarina (*Citrus Reticulata*).

Mandarina es un nombre utilizado para una clase particular de los cítricos, se caracterizan por tener la piel delgada y en general suelta o casi suelta de los segmentos interiores. Ellas se tratan como miembros de una especie diferente, *Citrus Reticulata*. En inglés el nombre es *Mandarin*; el nombre "*tangerine*" se utiliza básicamente en inglés como un nombre alternativo para el conjunto del grupo, pero, en el comercio, generalmente se limita a los tipos con piel de color rojo-anaranjado, como se muestra en la Figura 2.2.

Descripción.

El árbol de la mandarina puede ser mucho menor o igual en tamaño que el de la

naranja dulce, dependiendo de la variedad. Con gran edad, algunos pueden alcanzar una altura de 25 pies (7,5 m) con alta difusión de las ramas. El árbol es generalmente espinoso, con ramas delgadas, con las hojas tanto amplias como delgadas, lanceoladas con diminutos dientes redondeados y peciolo con alas estrechas. Las flores nacen simples o en pequeños grupos en las axilas de las hojas. El fruto es achatado, la piel brillante de color naranja o rojo-anaranjado cuando maduran, suelta y que se separa fácilmente de los segmentos. Las semillas son pequeñas, puntiagudas en un extremo, y verdes por dentro.



Figura 2.2. Mandarinas en árbol

Variedades.

Los cultivares de Mandarina se clasifican en varias categorías:

Clase I, Mandarinas:

- **Changsa:** naranja-rojo brillante, dulce, pero insípida; con semillas. Madura temprano en el otoño. El árbol tiene una alta resistencia al frío, ha sobrevivido a 4 ° F (-15,56 ° C) en Arlington, Texas. Se cultiva como ornamental.
- **Le-dar:** surgió de una rama descubierta en un árbol de mandarina 'Ellendale

Beauty' en Bundaberg, Queensland, Australia La propagación comercial fue alrededor de 1959.

Clase II, Tangerina:

- **Clementina:** ('Mandarina de Argelia') introducida en la Florida por el "United States Department of Agriculture" en 1909 y desde Florida a California en 1914. Redonda a elíptica, de medio tamaño, 2-2 3 / 8 pulgadas (5-6.1 cm) de ancho, 2-2 3 / 4 pulgadas (5-7 cm) de alto, de piel naranja-rojo profundo, suave, brillante, gruesa, floja, pero poco hinchada; pulpa naranja profundo con 8-12 segmentos; jugosa, de calidad y sabor muy finos; 3 a 6 semillas de tamaño mediano, no nucleares; tempranera, pero de larga temporada, se extiende hasta el verano.
- **Dancy:** puede proceder de China, se encuentra en la plantación de Col. GL Dancy en Buena Vista, Florida, y se puso en cultivo en 1871 o 1872. De oblata a en forma de pera, de tamaño mediano, 2 1/4-3 pulgadas (5.7-7.5 cm) de ancho, 1 1/2-2 1 / 8 pulgadas (4-5.4 cm) de alto, de piel de naranja-rojo profundo a rojo , lisa, brillante al principio, pero ondulada y con pliegues más tarde, delgada, coreácea, dura; pulpa de color naranja oscuro con de 10 a 14 segmentos , de alta calidad, sabor rico; 6-20 semillas pequeñas.
- **Robinson:** el resultado de la polinización de una 'Clementina' con el 'Orlando' tangelo, en el "United States Department of Agriculture's Horticultural Field Station", Orlando, Florida, se introdujo en cultivo en 1960. Es esencialmente una mandarina, tiene de 10 a 20 semillas. Cuando se cruza nuevamente con polen de la 'Orlando' eleva enormemente el cuajado de frutas, pero también resulta en el aumento de la cantidad de semillas con un promedio de 22 por fruto.

Clase III, Satsuma (a veces vendida como "Emerald Tangerine")

- **Owari:** oblata a redondeada o en forma de pera con la edad, de tamaño mediano, 1 1/2-2 3 / 4 pulgadas (4-6.1 cm) de ancho, 1 1/2-2 1 / 2 pulgadas (4 -- 6,25 cm) de alto, de piel naranja, ligeramente áspera, convirtiéndose a plegada, delgada, dura; pulpa de color naranja, de rico sabor sub-ácido, casi sin semillas, a veces 1 a 4 semillas. Tempranera, pero de corta estación. El árbol es pequeño, casi sin espinas,

de hojas grandes, con o sin alas débiles en los pecíolos; cultivadas comercialmente en el norte de Florida, Alabama y otros Estados del Golfo, muy poco en California.

- **Wase:** descubierta en varios lugares en el Japón antes de 1895; se cree que de un brote de 'Owari'; propagada y extensamente plantada en Japón antes de 1910; se sembró en Alabama en 1917, y un árbol se envió a California en 1929 ; oblata a redondeada o algo cónica, grandes, 2 1 / 3 pulgadas (5,81 cm) de ancho, 1 3 / 4 pulgada (4,5 cm) de alto, de piel naranja, delgada, lisa, pulpa de color naranja-salmón, dulce, con 10 segmentos más o menos. Muy tempranera. El árbol es enano, de crecimiento lento, produce mucho, pero es susceptible a plagas y enfermedades, se ha plantado en medida limitada en el sur de California y Alabama.

Clima.

- Las mandarinas son mucho más resistentes al frío que la naranja dulce, y el árbol es más tolerante a la sequía. Los frutos son tiernos por lo que son fácilmente dañados por el frío. (Guerrero, 2008)

2.4. Composición química de los ácidos grasos.

Los aceites vegetales están compuestos por materia orgánica casi en su totalidad, algunos aceites se pueden observar trazas de algunos metales, como hierro y cobre. Los compuestos orgánicos más comunes presentes en los aceites vegetales son: triglicéridos, fosfátidos, materia insaponificable, esteroides, tocoferoles, hidrocarburos, ácidos grasos libres y trazas de metales.

Ácidos grasos.

Los ácidos grasos libres son moléculas formadas por una cadena hidrocarbonada lineal (apolar y lipófila), de un número par de átomos de carbono, unidas con un grupo carboxilo en un extremo (polar e hidrófilo). Estas moléculas son llamadas anfipáticas. Una característica muy particular de los ácidos grasos, ya que son cadenas de número par de carbonos. (Linarez, 2005).

Entre los ácidos se encuentran los llamados esenciales cuyos nombres comunes son linoléico y linolénico (ver Tabla 2.2), su nombre se debe a que son necesarios para el organismo y este no es capaz de sintetizarlo por sí mismo. (Badui, 1999).

Tabla 2.1. Nomenclatura de los ácidos grasos

Nombre sistemático	Número de Carbonos e insaturaciones	Nombre común
Dodecanoico	C12:0	Láurico
Tetradecanoico	C14:0	Mirístico
Hexadecanoico	C16:0	Palmítico
Octadecanoico	C18:0	Esteárico
Eicosanoico	C20:0	Araquídico
Docosanoico	C22:0	Behénico
9-Hexadecanoico	C16:1	Palmitoleico
9-Octadecanoico	C18:1	Oleico
9-Eicosanoico	C20:1	Gadoleico
9,12-Octadecadienoico	C18:2	Linoléico
9,12,16-Octadecatrienoico	C18:3	Linolénico
13-Docosenoico	C20:1	Erúcico
5,8,11,14-Eicosatetraenoico	C20:4	Araquidónico
5,8,11,14,17-Eicosapentanoico	C20:5	EPA
4,7,10,13,16,19-Docosahexanoico	C22:6	DHA
4,8,12,15,19-Docosapentanoico	C22:5	DPA

Fuente: Linares, (2005).

El perfil de ácidos grasos en un aceite es considerado como la identidad de este. Dicho perfil muestra el porcentaje de ácidos grasos presentes en el aceite. Existen varios métodos para determinarlo en capítulo III, expone la metodología empleada para determinar el perfil de ácidos grasos de los aceites extraídos de las semillas de *Citrus Sinensis* y *Citrus Reticulata*.

2.5. Métodos de extracción.

La extracción de un aceite, como su nombre lo indica, es el proceso mediante el cual se extrae aceite de una semilla o materia vegetal con un contenido importante de grasa,

bien sea desde el punto de vista de comercialización como de aplicaciones diversas. Existen diversos métodos de extracción para este tipo de aceites entre los más comunes se tienen: prensado al frío, destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación), extracción en continuo con solventes volátiles empleando equipo tipo Soxhlet, enfleurage y con fluidos supercríticos.

La **Destilación por arrastre con vapor** es una técnica que se emplea para separar un líquido volátil, el cual debe ser miscible con el agua. Una cantidad de materia vegetal se pone en contacto con vapor de agua y luego se destila, posteriormente se realiza una extracción para separar las fases acuosa y orgánica; la fase orgánica se seca y se evapora el solvente, quedando el aceite extraído, cuya cantidad se obtiene por diferencia de pesadas. (González, 2007)



Figura 2.3. Equipo de destilación por arrastre con vapor

La **Extracción con solvente empleando el equipo tipo Soxhlet** también recibe el nombre de extracción sólido-líquido, lixiviación o lavado, lixiviación es cuando lo que se quiere extraer, posee valor como es el caso de esta investigación y lavado cuando se refiere cuando se quiere extraer de un sólido un componente no deseado. Con esta técnica se puede separar componentes que se hallan presentes en mezclas solidas. En la extracción con estos equipos, el sólido al cual se le quiere extraer el componente

deseado, se coloca en un dedal de celulosa, este se introduce en un dedal de celulosa, este se coloca dentro de la cámara de extracción como se observa en la Figura 2.4

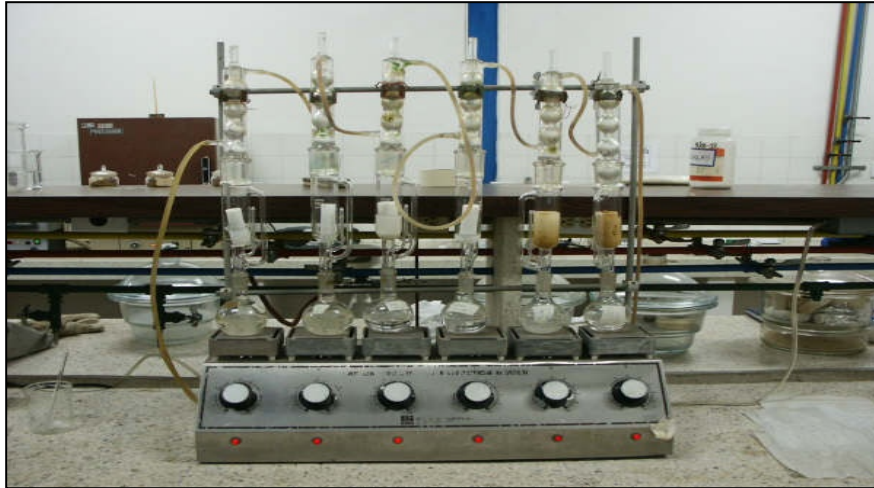


Figura 2.4. Equipo de Extracción Tipo Soxhlet

El solvente es colocado en el calderín y el condensador se conecta al suministro de agua fresca. Cuando se eleva la temperatura el solvente se evapora asciende hasta el condensador en donde el solvente regresa a su estado líquido, cae en la cámara de extracción, extrayendo el aceite o grasa contenida en las semillas; luego, mediante un vaso comunicante, el solvente con el componente extraído cae nuevamente en el calderín. Este proceso se repite continuamente en un lapso de tiempo de 3 a 5 horas aproximadamente. Finalmente se retira el dedal de celulosa con el sustrato y debido a la diferencia en los puntos de ebullición se va recuperando el hexano en el vaso extractor mientras que en el calderín queda la sustancia deseada. (Maradey, 2008)

Disolventes.

Para llevar a cabo la extracción, se debe emplear un disolvente que sea capaz de extraer la sustancia deseada del sólido; para el caso de grasas y/o aceites se emplean solventes orgánicos; entre ellos uno de los más ampliamente utilizado es el hexano (C_6H_{14}) debido a su alta disponibilidad; bajo punto de ebullición; y bajo costo en comparación con otros disolventes orgánicos; sin embargo el hexano puede ser peligroso debido a su inflamabilidad y además afecta el sistema nervioso; por lo cual se debe manejar con cuidado. Sus propiedades se pueden observar en la Tabla 2.3.

Tamaño de partículas.

El diámetro de las partículas tiene una gran influencia dentro del proceso, ya que es una función directa del área superficial total; que será importante para cada reacción o difusión. Al ignorar este parámetro, se corre el riesgo de que las paredes celulares permanezcan intactas, impidiendo el paso del solvente y por ende la extracción del aceite contenido en las semillas. Por tal motivo estas deben ser molidas, para liberar los contenidos de las células individuales, lo que incrementa el número de células extraídas. Sin embargo el tamaño de las partículas no debe ser muy pequeño, ya que se puede disminuir la permeabilidad al disolvente, lo que provoca la formación de corrientes preferenciales y el bloquea el proceso de extracción en las zonas en las que no circula solvente.

Tabla 2.2. Propiedades fisicoquímicas y termodinámicas del hexano

Propiedades	Valor
Punto de ebullición (°C)	69,95
Punto de fusión (°C)	-95,6
Índice de refracción @ 20°C	1,38
Presión de vapor (mmHg) @ 15,8 °C	100
Temperatura de autoignición (°C)	223,0
Punto de inflamación	-21,7

Fuente:(Lide,1995)

Relación masa de sustrato- volumen de solvente.

La capacidad, la velocidad de disolución del soluto y las impurezas de los sólidos son factores importantes que influyen en el proceso de extracción cuando se trabaja en un equipo con una cantidad de solvente constante, debido a que la variación de la masa a extraer puede afectar la selectividad, la eficiencia o la efectividad del solvente provocando esto una variación en el rendimiento del proceso. Para el caso del equipo Tipo Soxhlet que se encuentra en el Laboratorio de Alimentos, debido a sus características no es posible variar el volumen de solvente, por ello se varia el tiempo y la masa de sustrato y se analiza cómo influyen estas variables en el porcentaje de aceite extraído.

2.6. Diseño Factorial.

Los diseños factoriales son los más adecuados y eficientes para llevar a cabo el estudio de los efectos producidos por dos o más factores sobre una función respuesta. Mediante el diseño factorial se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores en cada ensayo completo o replica del experimento (Montgomery, 1996).

El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producido por un cambio de nivel del factor. Con frecuencia, este se conoce como efecto principal porque se refiere a los factores de interés primordial del experimento. Por ejemplo si se toman en cuenta los datos de la Tabla 2.4.

Tabla 2.3. Datos de un diseño factorial sin interacción

		Factor B	
		B ₁	B ₂
Factor A	A ₁	20	30
	A ₂	40	52

Fuente: Montgomery, 1996

El efecto principal del factor A podría interpretarse como la diferencia entre la respuesta promedio en el primero y segundo nivel de ese factor. Numéricamente se tiene:

$$A = \frac{40 + 52}{2} - \frac{20 + 30}{2} = 21 \quad 2.1$$

De manera que incrementar el factor de nivel 1 al 2 produce un cambio en la respuesta de 21 unidades. De forma similar, el efecto principal de B, es:

$$B = \frac{30 + 52}{2} - \frac{20 + 40}{2} = 11 \quad 2.2$$

En algunos experimentos puede observarse que la diferencia en la respuesta entre los niveles de un factor no es la misma que en todos los niveles de los otros factores. Cuando esto ocurre existe una interacción entre los factores. Por ejemplo, considerando la Tabla 2.5

Tabla 2.4 Datos de un diseño factorial con interacción

		Factor B	
		B ₁	B ₂
Factor A	A ₁	20	40
	A ₂	50	12

Fuente: Montgomery, 1996

De esta manera puede observarse una interacción entre los factores ya que el efecto que tiene A en la función respuesta depende del nivel elegido para el factor B.

Los diseños factoriales son necesarios cuando alguna interacción puede estar presente, con el propósito de evitar hacer conclusiones que son engañosas. Los diseños factoriales permiten estimar los efectos de un factor en diversos niveles de los otros factores, produciendo conclusiones que son validas sobre toda la extensión de las condiciones experimentales (Montgomery, 1996).

2.7. Emulsiones.

Las *emulsiones* son sistemas heterogéneos constituidos por dos fases líquidas inmiscibles; una generalmente es agua y otra algún tipo de líquido (aceite, grasas, ceras, ácidos, etc) que pueden ser sólidos o líquidos.

Para que estas dos fases inmiscibles se unan; se debe disminuir la tensión superficial; para ello se emplean los *emulgentes o emulsificantes* los cuales se pueden dividir en: iónicos, no iónicos y anfóteros. Las emulsiones tienen gran importancia para formular productos dermatológicos y cosméticos, dado que satisfacen las exigencias fisiológicas de la piel y pueden liberar uniformemente materias hidrosolubles y liposolubles en la piel (Beierdorf, 2005).

Tipos de emulsiones.

Emulsion O/W (aceite en agua): Las emulsiones de aceite en agua (oleoacuosas) tienen el aceite como fase dispersa en el agua, que es la fase continua es decir el aceite encuentra en el agua en forma de pequeñas gotitas como se observa en la Figura 2.4, este tipo de emulsión se recomienda para personas con piel normal; son de fácil absorción y no dejan ningún brillo oleoso. Son ampliamente utilizadas pues pueden extenderse con facilidad sobre la piel; cuando se aplican, la parte acuosa se evapora generando un efecto se evapora un efecto refrescante. Por otro lado la fase oleosa interna hidrata y engrasa la piel. Las emulsiones O/W son sólo levemente oclusivas. Se lavan con agua y son adecuadas como emulsiones limpiadoras y para el cuidado diario normal (Beiersdorf, 2005).

Emulsion W/O (agua en aceite): En las emulsiones hidroleosas o de agua en aceite, el agua está dispersa en aceite, que es la fase externa, es decir la fase interna consiste en gotitas de agua rodeada por la fase oleosa. Son recomendadas en casos de piel seca; la desventaja es que no se absorben con tanta rapidez en la piel.

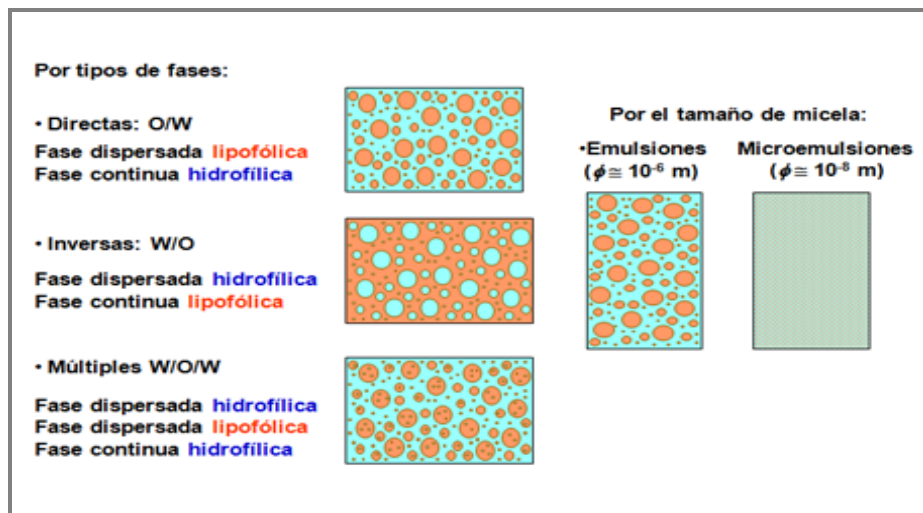


Figura 2.5. Tipos de emulsiones

Las emulsiones W/O forman una película oleosa protectora (efecto oclusivo) que reduce la pérdida de agua de la epidermis; aseguran una intensa hidratación cutánea y generan una relación aceite/humedad equilibrado. No pueden ser lavadas con agua sola. (Beiersdorf, 2005)

Compuestos empleados en las emulsiones.

Emulsionantes.

Son tensoactivos que se añaden a la fase grasa de la emulsión para darle las siguientes características:

- Estabilidad.
- Sensación agradable sobre la piel.
- Mayor extensibilidad sobre la piel.
- Compatibilidad cutánea.
- Estandarización de las formulaciones.

Los emulsionantes, como tensoactivos pueden clasificarse como: iónicos (catiónicos, aniónicos), no iónicos y anfóteros.

Aniónicos: los más usados son los jabones, alquilsulfatos y fosfatos. Los jabones son normalmente del tipo sódico, potásico o derivados de etanolaminas sustituidas por ácidos grasos. Se suelen formar in-situ de la emulsión con el ácido en la fase oleosa y el alcalino en la acuosa. Los alquilsulfatos son utilizados para obtener emulsiones estables y los fosfatos son compuestos de ésteres ortofosfóricos de alcoholes grasos oxietilenados, son poco empleados.

Catiónicos: se emplean compuestos del amonio cuaternario y en sistemas O/W y mayor aplicación es en las cremas y acondicionadores capilares.

No iónicos: son totalmente covalentes y son los más empleados en la actualidad. Existen solubles en agua para formar emulsiones O/W y solubles en aceite para emulsiones W/O. Estos emulgentes tienen grandes ventajas sobre los anteriores debido su carácter no polar:

- Son emulgentes neutros que darán lugar a cremas neutras si no son añadidos otros componentes que modifiquen el pH.
- Pueden asociarse con otros emulgentes iónicos y no iónicos.
- Son más inmunes a la acción de los electrólitos que los iónicos.

Anfóteros: se comportan como catiónicamente activos o aniónicamente activos en función del medio en que se encuentren. Prácticamente no se encuentran en una emulsión cosmética (Espinoza, 2004 citado en Maradey, 2008).

Factores de consistencia.

Se suelen utilizar alcoholes grasos de alto peso molecular o ésteres de ácidos grasos, por ejemplo, el alcohol cetil estearílico o monoestereato de glicerina, o una mezcla de los dos (Espinoza, 2004 citado en Maradey, 2008).

Las principales características de estos compuestos son:

- Aumentan la viscosidad de la emulsión.
- Aportan estabilidad.
- Dan sensación de suavidad.

Aceites.

Los aceites y las ceras son los que constituyen los agentes de cuidado. Las principales características son las siguientes (Espinoza, 2004 citado en Maradey, 2008).

- Previenen la pérdida de agua.
- Dan cohesión a las células epiteliales.
- Acción disolvente.
- Limpieza.
- Dan consistencia y brillo a las emulsiones.
- Pueden dar estabilidad al sistema emulsionante.

Glicoles.

Son productos higroscópicos que absorben la humedad y ayudan a mantener la hidratación de la superficie cutánea. Impiden también la evaporación de la crema que se encuentra en la capa superior del tarro. Los más utilizados son la glicerina, propilenglicol, hexilenglicol, entre otros (Espinoza, 2004 citado en Maradey, 2008).

2.8. Toxicología.

La toxicología es el estudio de los venenos o en una definición más precisa, la

identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones.

- **Toxicidad aguda**

La toxicidad aguda se refiere al desarrollo rápido de síntomas y efectos después de la aplicación de dosis únicas relativamente altas o daños inmediatamente generados por dosis únicas suficientemente grandes. Un solo compuesto puede generar efectos tóxicos y crónicos, estos dependen de la dosis y duración a la exposición. La determinación de la toxicidad aguda se realiza mediante ensayos con animales. La observaciones de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y autopsiados. En estos estudios se tienen en cuenta la dosificación la cual incluye dosis, frecuencia y duración de la administración. Para que las predicciones sean de interés, es necesario contar con cierta información sobre los aspectos siguientes: el compuesto y sus propiedades físicas y químicas, el organismo afectado, los efectos a la respuesta que el compuesto causa y exposición (dosis, tiempo, exposición).

En toxicología aguda existen dos tipos de datos: datos cuánticos y datos graduados, los datos cuánticos incluyen mortalidad e incidencia de signos fármaco-tóxicos y los graduados el peso corporal y consumo del alimento.

La toxicidad aguda es el primer paso en los estudios toxicológicos y entre sus principales objetivos se encuentra definir toxicidad intrínseca, predecir daños en las diferentes especies en las que evalúa las características tóxicas de las sustancias y proveer información acerca del diseño y los posibles niveles de dosis en los estudios de administraciones prolongadas, entre otros. Entre la clasificación de las evaluaciones agudas se encuentran: toxicidad oral, toxicidad dérmica, toxicidad por inhalación, estudios de irritabilidad tópica y estudios de irritabilidad oftálmica.

- ✦ **Toxicidad oftálmica u ocular.**

Esta prueba utilizada para ensayos de cosméticos, consiste en aplicar 0,1 mL o 0,5 g de la sustancia sobre el ojo del animal (generalmente los animales utilizados en estas pruebas son conejos albinos). Los ojos deben examinarse después de 1, 24, 48 y 72

horas. Si no hay evidencia de lesiones oculares al cabo de 72 horas, se puede poner fin al ensayo (Díaz *et al.*, 2006 citado en González, 2010).

✦ **Toxicidad dérmica.**

Esta prueba también es utilizada para ensayos de cosméticos, el procedimiento consiste en aplicar 0,5 mL o 0,5 g de la sustancia sobre la piel de un animal, por tiempo de 4 horas. Los animales se observan durante un máximo de 72 horas, para detectar signos de edema y eritema en la piel, generalmente los animales utilizados en estas pruebas son conejos albinos (Díaz *et al.*, 2006 citado en González, 2010).

Eritema: Es una reacción inflamatoria de la piel. Su significado literal es rojo, y el rasgo que se le caracteriza es un enrojecimiento de la piel (Bermúdez *et al.*, 2007 citado en González, 2010).

Edema: Manifestación patológica ocasionada por la presencia de cantidades anormales de líquido proveniente del plasma que queda acumulado en los espacios intercelulares de los tejidos, incrementando el tamaño de la zona (Bermúdez *et al.*, 2007 citado en González, 2010).

CAPÍTULO III

III. MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se dará a conocer la metodología que incluye la aplicación de técnicas, métodos y procedimientos a seguir para el logro de los objetivos planteados, así como también establecer el tipo de investigación a realizar.

3.1. Tipo de investigación.

Según los objetivos trazados, este trabajo de investigación a nivel de profundidad es de tipo proyectiva (Pérez, 2005); debido a que, en el desarrollo de la investigación se propone la creación de un procedimiento para la incorporación de los aceites extraídos de las semillas de naranja y mandarina para la elaboración de un producto natural cosmético para limpieza facial; aportando de esta manera una nueva propuesta para el desarrollo de un producto cosmético.

En lo referente a la estrategia o diseño de la investigación, es de tipo experimental, ya que se manejarán variables a diferentes condiciones de operación, mediante un diseño experimental de tipo factorial (Montgomery, 1996), para finalmente definir las condiciones más adecuadas para la extracción de los aceites y su posterior utilización en la elaboración del producto cosmético.

Para el desarrollo sistemático de la investigación, se plantean las siguientes etapas:

- Caracterización de las semillas de naranja y mandarina.
- Establecimiento de las variables más importantes que influyen en el proceso de extracción.
- Extracción de los aceites.
- Realización del perfil lípidico de los aceites de naranja y mandarina.
- Caracterización de los aceites extraídos.
- Elaboración del producto cosmético, siguiendo una formulación base.
- Caracterización el producto cosmético natural.

3.2. Caracterización de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*).

Revisión de las normas COVENIN para la realización de análisis proximales.

Consiste en la búsqueda y reconocimiento de los métodos de análisis de la Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN, como se observa en la Tabla 3.1; tomando en consideración algunas modificaciones adaptadas a las características y capacidades de los equipos disponibles.

Compresión de cada uno de los métodos propuestos en la normativa.

Analizar los métodos propuestos en la norma constituye una de las fases más importantes en el alcance del objetivo planteado, debido a que esto disminuye el tiempo de trabajo y los posibles errores humanos.

Aplicación de la técnica de análisis proximal para la determinación de:

- **Porcentaje de humedad.**

El porcentaje de humedad de la muestra se determinó según la norma COVENIN 1156-79 mostrada en la Tabla 3.1, retirando la humedad en la estufa ubicada en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad de Carabobo. Cabe destacar que la prueba se realizó a las semillas “tal como ofrecida” es decir, no se le hizo ningún proceso de secado previo. La prueba se realizó por triplicado. El contenido de humedad se expresa en porcentaje y se calculó separadamente para cada muestra mediante la siguiente ecuación (COVENIN1156-79):

$$\%H = \frac{(m_{pv} + m_{mvh} - m_{pms})}{m_{pv}} \times 100, \quad 3.1$$

Donde:

$\%H$: Porcentaje de humedad (%)

m_{pv} : Masa del pesafiltro vacío, g

m_{mvh} : Masa de la muestra vegetal húmeda (g)

m_{pms} : Masa del pesafiltro con la muestra después de desecarla (g)

Tabla 3.1. Normativas empleadas para la determinación del análisis proximal de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*)

Análisis Proximal	Normativa Empleada	Alcance
Humedad	COVENIN 1156-79	Determinación del porcentaje de humedad libre en las semillas seleccionadas.
Cenizas	COVENIN 328:2001	Determinación del porcentaje de cenizas presente en las semillas.
Aceite	COVENIN 3218:1996	Determinación de la grasa libre presente en las semillas seleccionadas.
Fibra cruda	COVENIN 1194-79	Cantidad de fibra cruda no digerible presente en las semillas.
Proteínas	COVENIN 1195:1980	Determinación del contenido de nitrógeno presente en las semillas, necesario para la cuantificación de las proteínas empleando el modelo matemático adecuado.
Calcio	COVENIN 1158-82	Determinación del porcentaje de calcio presente en las semillas
Carbohidratos	Por diferencia	

Fuente: Maradey (2008)

- **Porcentaje de cenizas.**

Para determinar el porcentaje de cenizas presentes en las semillas se sigue la metodología descrita en la norma COVENIN 328:2001, empleándose además de la estufa, una mufla ubicada en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad de Carabobo.

El contenido de cenizas se calculó por medio de la ecuación (COVENIN 328:2001):

$$\%Cs = \frac{(m_{cc} - m_{cv})}{m_{cm}} \times 100, \quad 3.2$$

Donde:

$\%Cs$: Porcentaje de cenizas (%)

m_{cc} : Masa de cápsula con las cenizas (g)

m_{cv} : Masa de la cápsula vacía (g)

m_{cm} : Masa de la cápsula con la muestra (g)

- **Porcentaje de aceite.**

También recibe el nombre de porcentaje de grasa o extracto etéreo se determina como lo establece la norma COVENIN 3218:1996, utilizando un equipo Tipo Soxhlet a escala de laboratorio, estableciendo las condiciones de operación en: 200 mL de volumen de solvente, 5 g de masa de muestra, 1,00 mm como tamaño de partícula y 4 horas de contacto entre solvente y el sustrato. El porcentaje de grasa libre o de aceite de la muestra se determinó a través de la ecuación:

$$\%G = \frac{(m_{bpd} - m_{bpa})}{m_{as}} \times 100, \quad 3.3$$

Donde:

$\%G$: Porcentaje de grasa libre (%)

m_{bpd} : Masa de del balón con las perlas de ebullición luego de la extracción (g)

m_{bpa} : Masa de del balón con las perlas de ebullición antes de la extracción (g)

m_{as} : Masa de la muestra de la almendra o semilla (g)

- **Determinar del porcentaje de fibra cruda.**

A partir de la torta desgrasada obtenida en el análisis anterior, se determina el porcentaje de fibra cruda que contienen las semillas siguiendo la norma COVENIN 1194:79. Finalmente el porcentaje de fibra cruda de la muestra se determinó a través de la ecuación (COVENIN 1194:79):

$$\%F_c = \frac{(m_{rai} - m_{rdi})}{m_{md}} \times 100, \quad 3.4$$

Donde:

$\%F_c$: Porcentaje de fibra cruda (%)

m_{rai} : Masa del residuo antes de incinerar (g)

m_{rdi} : Masa del residuo después de incinerar (g)

m_{md} : Masa desgrasada de la materia vegetal (g)

- **Porcentaje de proteínas.**

Para determinar la cantidad de proteínas que contienen las semillas se emplea el método de Kjeldahl, que determina el porcentaje de nitrógeno según la norma COVENIN N° 1995-80. El porcentaje de proteínas presentes en la muestra se expresa mediante la siguiente ecuación (COVENIN 1995-80):

$$\%P_r = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times Peq_N \times f}{m_m} \times 100, \quad 3.5$$

Donde:

$\%P_r$: Porcentaje de nitrógeno en base húmeda (%)

V_{HCl} : Volumen de ácido clorhídrico requerido para la titulación de la muestra (L)

N_{HCl} : Volumen de ácido clorhídrico requerido para la titulación de la muestra (eq/L)

m_m : Masa de la muestra (g)

Peq_N : Peso equivalente del nitrógeno (14,01 g/eq)

f : Factor de conversión del modelo para la semilla en estudio (6,25 adim.)

- **Porcentaje de calcio.**

El porcentaje de calcio presente en las semillas seleccionadas se obtiene a partir de las cenizas de las mismas, tal como lo establece la norma COVENIN 1158-82. El contenido de calcio presente en la muestra de alimento se expresa como porcentaje (%p/p).y se calculó mediante la ecuación (COVENIN 1158-82):

$$\%Ca = \frac{V_{KMnO_4} \times N_{KMnO_4} \times Peq_{Ca} \times V_{tc}}{A_c \times m_c \times 1000} \times 100, \quad 3.6$$

Donde:

$\%Ca$: Porcentaje de calcio (%)

V_{KMnO_4} : Volumen de la solución permanganato de potasio gastado en la titulación (mL)

N_{KMnO_4} : Normalidad de la solución de permanganato de potasio (eq/L)

Peq_{Ca} : Peso equivalente del calcio (20,04 g/eq)

V_{tc} : Volumen total de la solución de cenizas (mL)

A_c : Alícuota de la solución de cenizas (mL)

m_c : Masa de la muestra de cenizas (g)

- **Carbohidratos.**

El porcentaje de carbohidratos está constituido principalmente por carbohidratos solubles. Para calcular este porcentaje en base seca, se incluyeron los porcentajes de grasa, fibra cruda, proteína y cenizas.

$$\%Carb = 100 - F_c - P_r - G - C_s, \quad 3.7$$

Una vez realizadas las pruebas antes mencionadas se conocerán las propiedades físico-químicas, tanto de las semillas de naranja como las propiedades de las semillas de mandarina.

3.3. Establecimiento de las variables más importantes que influyen en el proceso de extracción.

Para determinar las mejores condiciones en el proceso de extracción se siguieron las siguientes etapas: Identificación de los procesos de extracción, planificación del experimento y diseño del experimento.

Identificación de los procesos de extracción de aceites.

Existen variadas técnicas para la extracción de aceites esenciales y vegetales, las cuales se mencionaron en el capítulo I. En este Trabajo Especial de Grado se abordara el estudio de las técnicas de destilación por arrastre con vapor de agua y extracción en continuo solido-liquido o Soxhlet con solventes volátiles, esto con la finalidad de comparar los rendimientos y las características de los aceites extraídos y en base a esto determinar las mejores condiciones para llevar a cabo la extracción.

Planificación del experimento

- **Establecimiento del objetivo del experimento.**

El objetivo del experimento es la extracción de aceites de las semillas de naranja y mandarina por las técnicas de *Destilación por arrastre con vapor* y *extracción por solvente empleando el equipo tipo Soxhlet*, para determinar el rendimiento de ambos procesos.

- **Identificación de las variables del proceso.**

Tanto en el proceso de extracción por *Destilación por arrastre con vapor*, como en el *proceso de extracción por solvente empleando el equipo tipo Soxhlet*, intervienen una serie de variables que inciden en el objetivo que se desea alcanzar (alto rendimiento del proceso de extracción).

Debido al poco estudio que existe en el área de extracción de aceites de semillas de cítricos, como la naranja y la mandarina, se hace uso de investigaciones anteriores donde para la extracción de aceites de semillas oleaginosas, las variables influyentes en el proceso a escala piloto son: masa de sustrato, tiempo de extracción y tamaño de partículas.

Con respecto a la materia vegetal o sustrato a tratar, esta se somete a una preparación previa a la extracción al fragmentarse en un molino y luego tamizarse haciendo uso de dos cestas de mallas metálicas para la obtención de dos tamaños de partículas a fin de obtener un rango de tamaño de 0,50-1,00 mm que facilite el contacto entre los cuerpos de soluto y solvente.

Un aspecto importante de las fases experimentales corresponde a la forma en que se registran los datos y las observaciones del proceso realizado. Para ello, se diseñan y elaboran de forma organizada los instrumentos de recolección de datos, de manera que ofrezcan una clara visión de trabajo y queden sujetas a un procesamiento adecuado. A esta actividad le continúa la extracción del aceite que comienza con la puesta en marcha de los métodos operatorios correspondientes para cada técnica de extracción, descritos en el apéndice . Finalmente, con la ejecución de corridas preliminares y con el análisis del comportamiento de las variables que afectan a cada proceso de extracción, se determinan las condiciones de operación adecuadas en la obtención de los aceites

de las semillas de naranja y mandarina.

Diseño del experimento

- **Selección del arreglo factorial.**

En esta investigación, analizarán las variables que inciden en los procesos de extracción mediante un diseño factorial que permita establecer tanto la influencia de cada una de ellas sobre la variable de respuesta, así como las interacciones entre las mismas. En la siguiente figura, se observa el diseño experimental que se aplicó para cada técnica.

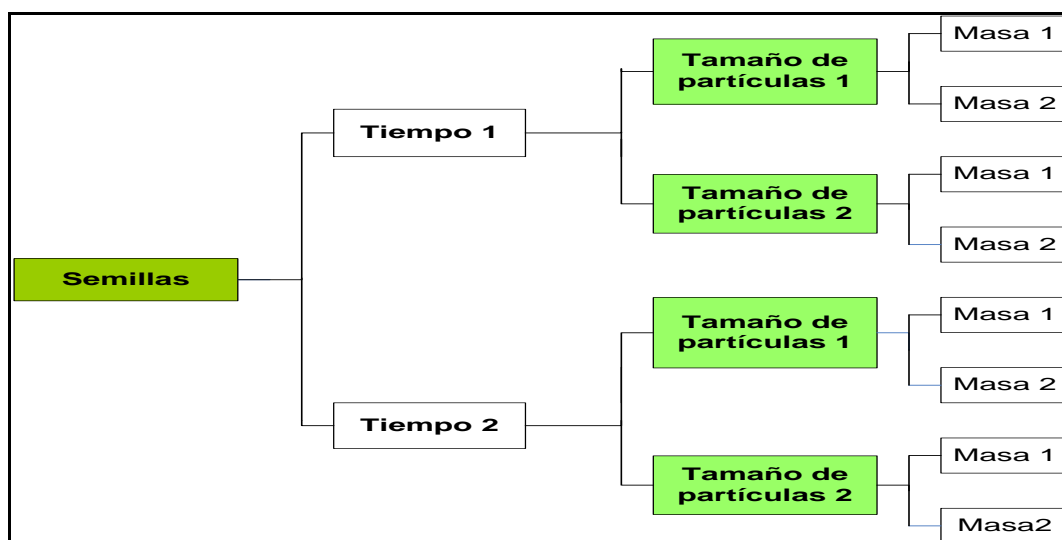


Figura 3.1 Diagrama del diseño experimental para la extracción del aceite de semillas de naranja y mandarina

Para el método de *Destilación por arrastre con vapor* se selecciona un diseño factorial del tipo n^3 como esquema para el desarrollo experimental; donde n representa el número de niveles de cada factor que son dos niveles para cada uno de los casos y el número 3, representa la cantidad de variables a analizar (masa de sustrato, tamaño de partícula y tiempo de extracción o destilado).

Para el método de *extracción con solventes volátiles empleando el equipo tipo Soxhlet* se selecciona un diseño de experimento que tiene como modelo n^3 donde n representa el número de niveles de cada factor que son dos niveles para cada uno de

los casos y el número 3, representa la cantidad de variables a analizar (masa de sustrato, tamaño de partícula y tiempo de extracción). Se decide que diseño experimental involucre las mismas variables para ambos métodos con el propósito de realizar una comparación más directa entre ambas técnicas.

- **Selección de los niveles de las variables a estudiar.**

Para la selección de los niveles y debido a la escasez de antecedentes en la extracción de aceites de naranja y mandarina, se realizaron corridas experimentales variando la masa y tiempo de extracción y tamaño de partículas, con esto se esperaba limitar el rango de estudio. Para seleccionar los niveles de tamaño de partícula que se muestran en las Tablas 3.2 y 3.3, se disminuye el tamaño de aproximadamente 500 g de semillas de naranja y 500 g de semillas de mandarina en el molino ubicado en el Laboratorio de Alimentos, luego se tamizan en cedazos de diferentes aperturas en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), para obtener diferentes tamaños de partículas.

Tabla 3.2. Niveles para la extracción del aceite de las semillas por método de Destilación por arrastre con vapor

Factor	Asignación	Nivel Bajo	Nivel Alto
Masa de sustrato (g)	A	80	100
Tamaño de partículas (mm)	B	1,00	2,00
Tiempo de extracción (min)	C	20	40

Tabla 3.3. Niveles para la extracción del aceite de las semillas por método de extracción por solventes volátiles empleando equipo tipo Soxhlet

Factor	Asignación	Nivel Bajo	Nivel Alto
Masa de sustrato (g)	A	5	15
Tamaño de partículas (mm)	B	0,50	1,00
Tiempo de extracción (h)	C	3	5

Se realizan tres replicas de cada experimento que permitan corroborar la exactitud de la masa de aceite obtenida, por tanto el número de corridas son veinticuatro para ambas técnicas.

Diseño del instrumento de recolección de datos.

Para la recolección de datos se utiliza una serie de tablas en donde se registran todos los datos experimentales, obteniendo así los valores que toman las variables independientes consideradas en el proceso de extracción. A continuación se tienen las Tablas 3.4 y 3.5 que constituyen un ejemplo del instrumento recolector de datos.

Tabla 3.4. Variables experimentales involucradas en la extracción del aceite de las semillas de naranja y mandarina empleando la Destilación por arrastre con vapor

Número de muestra	Tamaño de partícula (mm)	Masa del sustrato ($m_s \pm 0,0001$)g	Tiempo de destilación ($t_d \pm 0,5$)min	Masa del aceite ($m_{aceite} \pm 0,0001$)g
1				
2				
3				

Temperatura ambiente: ($\pm 0,5$)°C

Presión ambiente: ($\pm 0,05$)mmHg

Tabla 3.5. Variables experimentales involucradas en la extracción de aceite de las semillas de naranja y mandarina empleando la extracción Soxhlet

Número de muestra	Tamaño de partícula (mm)	Tiempo de extracción ($t_{ex} \pm 1$)h	Masa de sustrato ($m_s \pm 0,0001$)g	Masa del balón vacío ($m_{bv} \pm 0,0001$)g	Masa del balón lleno ($m_{bll} \pm 0,0001$)g
1					
2					
3					

Temperatura ambiente: ($\pm 0,5$)°C

Presión ambiente: ($\pm 0,05$)mmHg

- **Determinación de las condiciones y etapas del proceso.**

Para ello se realizaron las extracciones, siguiendo el diseño experimental antes expuesto para ambas técnicas de extracción y con base a los resultados obtenidos se definieron las mejores condiciones y etapas del proceso.

3.4. Extracción los aceites a partir de las semillas de naranja y mandarina a nivel de laboratorio.

Extracción de los aceites a nivel de laboratorio.

Mediante las técnicas de extracción seleccionadas se realizó la extracción de los aceites a partir de las semillas de naranja y mandarina.

- **Identificación de la población y muestra.**

Se utilizó como materia prima las semillas de naranjas y mandarinas obtenidas como producto de desecho en la elaboración de zumos a nivel industrial en la Empresa Jugos Yaracuy, ubicada en el Municipio Nirgua. Edo. Yaracuy

Estas semillas fueron trasladadas al Laboratorio de Alimentos de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de Carabobo para su procesamiento. Se selecciona aproximadamente 1 kg de semillas de naranja y un 1 kg de semillas de mandarina, de los cuales se toma una muestra de aproximadamente 500 g respectivamente para el acondicionamiento previo a las extracciones.

- **Tratamiento de la materia prima.**

Para iniciar el proceso de extracción de la materia prima de la cual se extraerá el aceite debe ser tratada de manera tal que sus características finales sean adecuadas para ser sometidas al proceso de extracción.

En el caso de la *Destilación por arrastre con vapor*, la materia puede estar fresca o seca, pero para su adecuada conservación y además evitar que la humedad influya en la interacción del solvente y el aceite en el caso de la *extracción por solvente empleando el equipo tipo Soxhlet*, las semillas deben ser secadas y molidas. El secado se realizó a una temperatura de 40°C por 24h, mientras que la molienda se varió de acuerdo a los dos niveles fijados para el tamaño de partícula.

- **Realización de la extracción de los aceites.**

Una vez seleccionadas las variables, los niveles que tomaran y el instrumento de recolección de datos se procede a realizar los procedimientos en sí. Para ello se siguen los métodos operatorios: para la *Destilación por arrastre con vapor* y para la *extracción por solvente empleando el equipo tipo Soxhlet* el método para la determinación del extracto etéreo, ambos se encuentran en el apéndice A.

Análisis de resultados.

Una vez realizados los experimentos correspondientes al proceso de *Destilación por arrastre con vapor*, se obtiene el valor de la variable objetivo para ello se determina la masa de aceite extraído y luego el rendimiento de cada extracción. Para ello se aplica la ecuación 3.8 que relaciona la masa de la semilla alimentada al proceso y la masa de aceite que se obtiene del mismo.

$$\%R = \frac{(m_{bl} - m_{bv})}{m_a} \times 100, \quad 3.8$$

Donde:

$\%R$: Rendimiento del proceso de extracción (%)

m_{bl} : Masa del balón luego del proceso de extracción mas las perlas de ebullición (g)

m_{bv} : Masa del balón antes del proceso de extracción mas las perlas de ebullición (g)

m_a : Masa de almendra o semilla (g)

Para la técnica de *extracción por solvente empleando el equipo tipo Soxhlet*, al concluir los 24 experimentos, se procede a determinar el valor de la variable objetivo, la cual es el rendimiento de cada una de las extracciones, empleando la ecuación anterior.

Luego, se analizan detalladamente las posibles causas que originan los resultados y de esta manera establecer las condiciones de operación que generan una mayor eficiencia en cada uno de los procesos.

Valoración estadística.

Finalmente para ambas técnicas de extracción se realiza un análisis estadístico de cada uno de los datos obtenidos empleando como herramienta STATGRAPHICS plus 5.1, el

cual permite observar a través del análisis de la varianza en la influencia independiente y combinada de los factores estudiados en el rendimiento en cada proceso de extracción.

3.5. Realización del perfil lípidico de los aceites de las semillas de naranja y mandarina.

Revisión de la norma COVENIN.

Para determinar el perfil de ácidos grasos de los aceites crudos se sigue lo expuesto en la norma COVENIN 2281:1998.

Determinación del perfil lípidico o perfil de ácidos grasos.

El perfil de ácidos grasos de los aceites de semillas de naranja y de mandarina fueron determinados en un cromatógrafo de gas Hewlet Packard 4890, ubicado en el Laboratorio de Servicios Analíticos de la empresa Alimentos Polar (Planta Salsas y Untables). El cromatógrafo está constituido por una columna de empaque capilar de sílica fundida en condición isotérmica con las características mostradas en la tabla 3.6.

El procedimiento consiste en inyectar aproximadamente 0,2 μL de la muestra preparada en el equipo, el integrador dibuja el cromatógrama, calcula el área bajo la curva y con esto el tiempo de retención.

Tabla 3.6. Características de la columna del cromatógrafo de gas empleada para la determinación del perfil de ácidos grasos de la muestra

Características	Valores
Díámetro	0,53mm
Longitud	15m
Tipo	Supelco wax TM-10

Luego se inyecta en el equipo el patrón de ácidos grasos y se mide sus tiempos de retención. Los cuales deben ser iguales a los del cromatógrama de la muestra si este ácido graso está presente. Finalmente se calcula el porcentaje de cada uno de los ácidos grasos como el área del pico del componente de la muestra.

3.6. Caracterización los aceites crudos.

Para caracterizar un aceite existe una gran variedad de ensayos a realizar; los análisis a los que se someten los aceites muestran tanto características esenciales como su nivel de calidad.

Revisión de las normas COVENIN.

Consiste en la búsqueda y reconocimiento de los métodos de análisis de la Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN, como se observa en la Tabla 3.5.

- **Densidad Relativa.**

La gravedad específica se determinó empleando un picnómetro, el cual se debe pesar en primer lugar vacío, luego con agua destilada y finalmente con la muestra de aceite, controlando la temperatura a 20°C. Los resultados se expresan mediante la ecuación:

$$\rho_R = \frac{m_2}{m_1 \times [1 + \alpha \times (T - 20^\circ C)]}, \quad 3.9$$

Donde:

ρ_r : Densidad relativa (adim.)

M_2 : Masa de grasa o aceite obtenida en el ensayo (g)

M_1 : Masa de agua obtenida en el ensayo de calibración (g)

α : Coeficiente de dilatación cúbica del vidrio a la temperatura dada.

$\alpha = 0,00003$ para vidrio sódico.

$\alpha = 0,00001$ para vidrio de borosilicato

- **Índice de refracción.**

Según la norma COVENIN 702:2001 es la relación entre el seno del ángulo de la incidencia y el seno del ángulo de retracción de un rayo luminoso, que pasa del aire al aceite o grasa, a una temperatura constante. Este se midió empleando el refractómetro, ubicado en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo a una temperatura de 20°C, este resultado se expresó empleando la ecuación (COVENIN 702:2001):

$$I_R = I_{\text{leído}} \times (T_{\text{leído}} - T), \quad 3.10$$

Donde:

I_R : Lectura reducida para la temperatura T.

I_{tsida} : Lectura a la temperatura T_{tsida} .

T : Temperatura de referencia (°C)

T_{tsida} : Temperatura a la cual se hace la lectura R' (°C)

K' : Constante =0,000365 para grasas y 0,000385 para aceites.

- **Índice de saponificación.**

Es el número de miligramos de Hidróxido de potasio requerido para saponificar un gramo de sustancia grasa. Este índice es indicativo de la capacidad que tiene el aceite para formar jabones. Según la norma COVENIN 323:1998, el método consistió en la saponificación completa de una muestra aceite, exactamente pesada, finalmente se realizó una valoración con exceso de HCl 0,5N. Los resultados se expresaron empleando la ecuación (COVENIN 323:1998):

$$I_s = \frac{56,1 \times N_{HCl}(V_B - V_A)}{m_a}, \quad 3.11$$

Donde:

I_s : Valor de saponificación.

V_B : Volumen de solución de HCl gastado en la valoración del ensayo en blanco (mL)

V_A : Volumen de solución de HCl gastado en la valoración de la muestra (mL)

N_{HCl} : Normalidad de la solución de HCl (eq/L)

m_a : Masa de la muestra de aceite (g)

- **Índice de yodo.**

El valor de este índice expresa una medida de la instauración de las grasas y aceites, se realizo empleando la norma COVENIN 324:2001, mediante el método Wijs, el resultado se expresó mediante la ecuación (COVENIN 324:2001):

$$I_I = \frac{12,69 \times N_{TS} \times (V_B - V_A)}{m_a}, \quad 3.12$$

Donde:

I : Índice de yodo.

V_B : Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en el blanco (mL)

V_m : Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en la muestra de aceite (mL)

N_T : Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio (eq/L)

Tabla 3.7. Análisis empleados para la caracterización de los aceites crudos de las semillas de naranja y mandarina

Análisis	Normativa	Alcance
Densidad relativa	COVENIN 703:2001	Determinación del cociente de la masa de aceite a un volumen determinado a una temperatura de 20°C.
Índice de refracción	COVENIN 702:2001	Medida del ángulo de refracción.
Índice de saponificación	COVENIN 323:1998	Miligramos de hidróxido de potasio requeridos para saponificar 1 g de aceite.
Índice de yodo	COVENIN 324:2001	Medida de insaturación del aceite.
Índice de acidez	COVENIN 325:1996	Contenido de los ácidos grasos libres en el aceite.
Índice de peróxido	COVENIN 508:1997	Mili equivalentes de O_2 contenido en 1000 g de aceite.

Fuente: Maradey (2008)

- **Índice de acidez.**

La acidez de un aceite puede entenderse como los ácidos grasos que no forman parte de la molécula de los triglicéridos. Mediante el ensayo correspondiente a la norma COVENIN 325:1996, el índice de acidez se expresa como los miligramos de Hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres contenido en 1 gramo de muestra. La ecuación empleada para esta determinación es: (COVENIN 325:1996):

$$I_A = \frac{(0,561 \times N_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}})}{m_a} \times 100, \quad 3.13$$

Donde:

I_A : Índice de acidez

N_{NaOH} : Normalidad del hidróxido de sodio (eq/L)

V_{NaOH} : Volumen de hidróxido gastado para la titulación (L)

- **Índice de peróxido.**

Este índice representa el grado de oxidación que ha sufrido el aceite en condiciones ambientales. Según la norma COVENIN 508:1997, se expresa como los miliequivalentes de Oxígeno activo contenido en 1000 g de aceite. La ecuación empleada para la determinación de este parámetro se muestra a continuación:

$$I_p = \frac{1000 * N_{TS} \times (V_A - V_B)}{m_a}, \quad 3.14$$

Donde:

I_p : Índice de peróxidos

N_{TS} : Normalidad del tiosulfato de sodio (eq/L)

V_2 : Volumen de tiosulfato de sodio gastada en la titulación de la muestra (mL)

V_1 : Volumen de tiosulfato de sodio gastada en la titulación del blanco (mL)

Propiedades organolépticas.

Se determinan las propiedades organolépticas de los aceites extraídos tales como: color, olor y apariencia por medio de la observación del mismo.

Pruebas de toxicidad.

La toxicidad de los aceites extraídos se estudiara aplicando:

- **Ensayo de irritabilidad dérmica.**

Este ensayo se realizó mediante lo descrito en la (OECD TG 404).

- ✦ **Animales de ensayo.**

Para el estudio se emplearon tres conejos albinos machos, el peso corporal de estos conejos oscila entre los 1,500Kg y 2,500Kg. Se mantuvieron en climatización durante

siete días con agua y comida con un ciclo luz/oscuridad 12 x 12 horas, en jaulas individuales.

✦ Realización del ensayo.

Para la realización del ensayo, 24 horas antes, la piel de los conejos fue expuesta, hasta obtener una área de aproximadamente 7 x 7 cm. Primero se les cortó el pelo con tijera, y luego rasurados con una máquina de afeitar, a ambos lados de la columna vertebral, evitando dañar la piel. Posteriormente se procede a la aplicación de 0,5 g del aceite de semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y 0,5 g del aceite de semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*) en cada uno de los lados rasurados de la piel del conejo. Los animales permanecieron por 4 horas en una caja de madera especial (guillotina), para evitar su acceso a los parches y que pudieran ingerir o inhalar los aceites en estudio. Al transcurrir este tiempo, la zona de aplicación se lavó con solución salina fisiológica.

El período de aplicación de los animales fue de 72 horas, vigilando los signos de edemas y eritema. Las respuestas de piel se evaluaron a las 4, 24, 48 y 72 horas después de haber retirado el aceite. La irritación dérmica fue analizada de acuerdo a la escala de Drize para la evaluación de lesiones en la piel, tal como se muestra en las tablas 3.8 y 3.9.

Tabla 3.8. Escala descrita por Drize para la evaluación de eritemas en la piel

Eritemas y formación de escaras	Ponderación
Si no aparece nada	0
Muy ligero el eritema (poco perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema severo con formación de úlceras y costras	4

Fuente: Rodríguez, *et.al.*, (1996)

Tabla 3.9. Escala descrita por Drize para la evaluación de edemas en la piel

Edemas y formación de escaras	Ponderación
Si no hay edemas	0
Edema poco perceptible	1
Edema ligero, bordes o áreas bien definidas por elevación de la piel	2
Edema moderado (área elevada de la aprox. 1mm)	3
Edema severo (elevación mayor a 1mm)	4

Fuente: Rodríguez, *et.al.*, (1996)

✦ **Obtención de resultados**

Para determinar el índice de irritabilidad dérmica se tuvieron en cuenta las evaluaciones en los períodos de tiempos correspondientes a 4, 24, 48 y 72 horas, según lo señalado en la OECD 404, estos valores fueron sumados y luego divididos entre el número de mediciones, lo que representa la media aritmética, se aplicó la escala presentada en la Tabla 3.9 para determinar el resultado final.

Tabla 3.10. Escala para la evaluación final del índice de irritabilidad dérmica

Índice de irritabilidad dérmica	Rango de ponderación
No irritante	0
Levemente irritante	0-2
Moderadamente irritante	2-6
Severamente irritante	6-8

Fuente: Rodríguez, *et.al.*, (1996)

- **Ensayo de irritabilidad oftálmica u ocular.**

Este ensayo se realizó mediante lo estipulado en la (OECD TG 405)

✦ **Animales de ensayo**

Se emplearon tres conejos albinos machos, el peso corporal de estos conejos oscila entre los 1,500Kg y 2,500Kg. Se mantuvieron en climatización durante siete días con agua y comida, con un ciclo luz/oscuridad 12 x 12 horas, en jaulas individuales.

✦ Realización del ensayo

La sustancia de ensayo se colocó en el saco conjuntivo del ojo derecho de cada animal, después de haber separado delicadamente el párpado inferior del globo ocular. El ojo izquierdo que no se trató sirvió de control. Transcurridas 4 horas de la aplicación, se lava el ojo con solución salina fisiológica. La irritación ocular fue analizada de acuerdo a la escala de Drize, para la evaluación del índice de irritación ocular, como se muestra en las Tablas 3.11., 3.12., 3.13 y 3.14.

Tabla 3.11. Escala para la evaluación de la opacidad en la cornea

Opacidad en la cornea	Ponderación
Sin ulceración ni opacidad	0
Zonas de opacidad dispersas o difusas, detalles del iris netamente visibles	1
Zona traslúcida fácilmente discernible, iris ligeramente oscurecido	2
Zona nacarada, iris completamente invisible, disminución del tamaño de la pupila	3
Córnea opaca, iris no discernible a través de la opacidad	4

Tabla 3.12. Escala para la evaluación de la reacción a luz

Reacción del iris a la luz	Ponderación
Normal	0
Pliegues netamente más profundos, congestión, tumefacción, moderada o conjuntiva, el iris continua reaccionando a la luz (una reacción lenta es positiva)	1
Ausencia de reacción a la luz, hemorragia, destrucción marcada	2

Tabla 3.13. Escala para la evaluación del enrojecimiento

Enrojecimiento	Ponderación
Vasos sanguíneos normales	0
Neta hiperimia de algunos vasos sanguíneos (ojos inyectados)	1
Coloración carmesí difusa, vasos sanguíneos individuales, difícilmente discernibles	2
Coloración roja fuerte y difusa	3

Tabla 3.14. Escala para la evaluación de inflamación o abscesos

Aparición de inflamación o abscesos	Ponderación
Sin inflamación o abscesos	0
Cualquier tumefacción superior a la normal	1
Tumefacción evidente con eversión parcial de los párpados	2
Tumefacción con párpados medio cerrados	3
Tumefacción con párpados casi cerrados	4

✦ Obtención de resultados

Para determinar el índice de irritabilidad ocular, ambos ojos fueron examinados a las 4, 24, 48 y 72 h de la aplicación inicial con el fin de detectar daños de las estructuras oculares antes mencionadas. Estos valores fueron sumados y luego divididos entre el número de mediciones, lo que representa la media aritmética, se aplicó la escala presentada en la Tabla 3.10., para determinar el resultado final.

3.7. Elaboración el producto natural para limpieza facial, siguiendo una formulación base.

Selección del método para la elaboración del producto cosmético.

Para la elaboración del producto cosmético se empleo el método de ensayo y error; mediante el uso de información obtenida en revistas especializadas (Cosméticos y Tecnología, 2010) y con la asesoría de personal calificado en el área de la farmacia y la cosmetología de la Universidad Central de Venezuela.

Selección del tipo de formulación para el producto facial.

Se desea que el preparado natural para limpieza facial sea un producto orientado a la remoción de impurezas en la piel y que además proporcione al cutis suavidad e hidratación; la emulsión a emplear no debe ser totalmente oclusiva, es decir es necesario que pueda lavarse con agua. Además, que pueda extenderse fácilmente; se selecciona para la elaboración del producto cosmético una emulsión aceite en agua

(O/W) que reúne todas estas propiedades, donde la parte acuosa se evapora sobre la piel proporcionando un efecto refrescante y que son de mas fácil absorción que la emulsiones agua en aceite; por lo que al emplear este tipo de emulsión, el principio activo puede penetrar más fácilmente (Beiersdorf, 2006). Una vez establecido el tipo de emulsión, se seleccionan los componentes que serán emulsificantes, emolientes o hidratantes, preservantes y estabilizadores, dichos componentes se muestran en la Tabla 3.10

Agua: Es el principal componente en la base de la crema, pues se encuentra en una alta proporción en la fase acuosa. Su uso principal es dar volumen al preparado, disminuir la viscosidad de la mezcla, ser solvente de la fase acuosa y constituir la fase continua en la emulsión.

Lauril sulfato de sodio: Es el tensoactivo aniónico más ampliamente usado en emulsiones O/W. Sus propiedades detergentes, espumantes, humectantes, dispersantes, así como su resistencia a las durezas del agua incluso a bajas temperaturas y su afinidad con la piel, le permiten estar presente en la mayoría de los productos para el cuidado de la piel.

Metilparabeno (Nipagin): Inhibe le crecimiento de hongos, bacterias, levaduras y gérmenes. Es inodoro, sin sabor y no tóxico.

Propilparabeno (Nipazol): Se usa en unión del metilparabeno para prevenir la actividad microbiana que alteran la fase oleosa.

Alcohol cetílico: Es un agente de consistencia en el preparado, ya que tiene una buena compatibilidad con la piel y las mucosas y excelentes propiedades estabilizantes y activadoras de la emulsión, además es casi inodoro lo que permite que el perfume fragancia agregada al preparado perdure.

Tween 80 (Polisorbato-80): Son agentes emulgentes del tipo surfactantes no iónico, que originan emulsiones de fase externa acuosa, estables y de textura fina, poco afectables por cambios de pH. Se usan como solubilizantes de una gran variedad de sustancias, incluyendo aceites esenciales, perfumes y vitaminas polisolubles.

Tabla 3.15. Componentes de las fases oleosa y acuosa para la elaboración de la emulsión O/W como base del producto cosmético

Fase	Compuesto	Propiedad
Acuosa	Agua destilada	Vehículo
	Lauril sulfato de sodio	Emulsificante
	Metilparabeno	Preservante
	Propilparabeno	Preservante
Oleosa	Alcohol cetílico	Estabilizador, da consistencia al producto facial.
	Tween 80 (Polisorbato -80)	Emulsificante
	Acido esteárico	Emulsificante
	Vaselina	Humectante

Acido esteárico: Conocido también como estearina, ácido cetilacético, ácido octodecanoico. Obtenido del sebo y ciertas grasas sólidas. Es de consistencia sólida dura y de color blanco-amarillenta o incoloro, insípido y casi inodoro. Se emplea como emulsionante en la preparación de emulsiones, pomadas y jabones.

Vaselina: Es una mezcla de hidrocarburos líquidos y semisólidos obtenidos del petróleo, de estructura microcristalina y consistencia semisólida; insoluble en agua, alcohol y glicerina. Masa blanquecina translúcida, de aspecto graso, untuosa al tacto, prácticamente inodora. Muy estable e inocua dermatológicamente. Además de vehiculizar esencias, ejerce un efecto oclusivo que hidrata la piel, tiene una mínima absorción vía percutánea, propiedades emolientes y en especial lubricantes que facilitan la extensión del producto.

Obtención del producto para limpieza facial a escala de laboratorio.

El producto cosmético para limpieza facial está definido por dos fases: acuosa y oleosa. Para la formulación del preparado se debe hacer uso de guantes de goma, tapa boca y gorro, además los instrumentos a empleados fueron lavados minuciosamente y

colocados en la estufa por un espacio de 15 minutos, para asegurar la asepsia necesaria de manera que el preparado no contenga ningún agente microbiológico que pueda alterar las propiedades de la misma o crear efectos secundarios en el usuario.

El procedimiento de elaboración del producto cosmético se observa en la Figura 3.2., se inició con el pesaje de los componentes del producto facial en el mismo recipiente, para evitar pérdidas por trasvasado, para ello se taró la balanza analítica una vez pesado cada compuesto. Las fases se pesaron por separado, es decir, en un recipiente se pesó la fase acuosa y en otro la fase oleosa cuyos componentes se detallan en la Tabla 3.15.



Figura 3.2. Elaboracion del producto cosmetico

Ambos beaker fueron introducidos en un baño a 70°C hasta que el alcohol cetílico, vaselina y el ácido esteárico se fundieron, la temperatura de las dos fases debió ser igual y constante, ya que al aumentar se oxidarían los componentes de la fase oleosa y si se disminuía rápidamente se habría solidificado el alcohol cetílico. Luego se incorporó la fase acuosa a la oleosa agitando continuamente y cuidando que ambas se estuvieran a la misma temperatura, durante este proceso se debió aumentar la velocidad de agitación, ya que se fue formando la emulsión y la viscosidad de la misma aumento, luego se retiró del fuego y se continuó mezclando pero a una velocidad inferior utilizando la técnica de espátulación, que consiste en producir un roce fuerte entre la emulsión y las paredes del recipiente en forma circular y de manera

envolvente, dejando que la espátula se deslice hasta el fondo del recipiente, para evitar que se incorpore aire a las fases (Bravo y Perez, 2005).

Una vez que la temperatura descendió a 35°C aproximadamente, se agregó el principio activo, es decir los aceites crudos extraídos anteriormente, la vitamina E y finalmente la fragancia; se agito hasta que la emulsión alcanzó la temperatura ambiente. Por último se envasó la emulsión en recipientes plásticos previamente esterilizados.

3.8. Caracterización el producto cosmético natural.

Determinación de las propiedades físicas del producto.

Se realizaron ensayos de densidad y viscosidad. Para determinar la densidad de la crema, fue necesario calentarla para disminuir su viscosidad y poder trasvasarla al picnómetro, se esperó que la misma llegase a temperatura ambiente para determinación del parámetro. La viscosidad se determinó empleando el viscosímetro de Brookfield ubicado en el laboratorio de Fisicoquímica de la Escuela de Ingeniería Química, empleando el método operatorio descrito en el apéndice A.

Estabilidad del producto.

Para determinar la estabilidad del producto, este se sometió a pruebas o ensayos acelerados de estrés. El estrés acelerado consistió en someter al preparado a diferentes temperaturas por un período de 7 días, esto se logró tomando tres muestras envasadas y tapadas, una se colocó a temperatura ambiente, otra a 10°C y la ultima en una estufa a 40°C, finalmente se determinó, si hay separación de las fases, cambios de color u olor.

Determinación de pH.

El pH del producto cosmético se determinó empleando un pHmetro con electrodo reemplazable, ubicado en el Laboratorio de Alimentos.

Determinación de propiedades organolépticas.

Se determinaron las propiedades organolépticas del preparado tales como: color, olor y apariencia por medio de la observación del mismo.

Estudio microbiológico.

Las emulsiones, en especial O/W tienen un importante riesgo de contaminación microbiológica. Esta contaminación puede provenir de las materias primas más susceptibles a contaminarse, como el agua, algunos extractos vegetales o de los propios envases.

Por ese motivo, se realizaron controles microbiológicos para asegurar que no se produjo contaminación ni que los conservantes hayan sido inhibidos por la acción de los emulgentes empleados. Los ensayos microbiológicos que se realizaron fueron: detección de bacterias, hongos, levaduras y agentes patógenos. Estos análisis se llevaron a cabo en la Unidad de Microbiología Ambiental (UMA) de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, bajo las normas COVENIN: 2130:1998 y 3462:1999.

Comportamiento biológico o sensibilidad.

Este ensayo consistió en determinar si el preparado produce reacciones irritantes y/o sensibilizadoras sobre los ojos y la piel, para ello se empleó el ensayo de irritabilidad ocular y el ensayo de irritabilidad dérmica, empleado en la sección 3.6, para la determinación de la toxicidad de los aceites crudos.

- **Ensayo de irritabilidad dérmica.**

Este ensayo se realizó mediante lo establecido en la (OECD TG 404), pero empleando el producto terminado.

- **Ensayo de irritabilidad oftálmica u ocular.**

Este ensayo se realizó mediante lo estipulado en la (OECD TG 405), pero empleando el producto terminado.

CAPÍTULO IV

IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se presenta un análisis de los resultados obtenidos para cada uno de los objetivos planteados, comparando con los datos bibliográficos o consideraciones teóricas.

4.1. Caracterización de las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) y mandarina (*Citrus Reticulata*).

En el capítulo anterior se habló de la importancia que tiene el conocimiento del porcentaje de humedad de las semillas seleccionadas para llevar a cabo el proceso de extracción, ya que un porcentaje de humedad por encima del 9% representa una disminución en la efectividad del proceso de extracción y facilita el almacenamiento de la muestra vegetal, evitando la proliferación de hongos y bacterias que puedan alterar las propiedades de las mismas.

Tanto las semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) como las semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*) poseen un alto porcentaje de humedad de $49,019 \pm 0,007\%$ y $46,200 \pm 0,007\%$, respectivamente, pero relativamente menor al porcentaje de humedad en otras semillas de cítricos como el limón (*Citrus Aurantifolia Swingle*), reportado en la bibliografía (Guevara, E, *et,al*, 2006) cuyo valor es de 68,00 %, el cual se determina por el método Dean-Stark, mientras que en esta investigación se determinó, empleando la norma COVENIN 1156-79. Debido a este alto porcentaje de humedad, se estimó la cantidad de las muestras necesarias para los análisis restantes y se secaron parcialmente en una estufa a una temperatura 40°C , tomando en cuenta que para el tratamiento de los resultados y la aplicación de las ecuaciones respectivas en cada caso se debe considerar el contenido de agua para las masas iniciales de muestra.

El porcentaje de cenizas indica el contenido de minerales que posee la materia vegetal, los cuales ejercen funciones reguladoras y plásticas en el organismo. El valor obtenido de cenizas para la semilla de mandarina fue $3,98 \pm 0,05\%$, y para las semillas

de naranja resultó ser de $2,45 \pm 0,05\%$, teniendo que para la semilla del limón mexicano (*Citrus Aurantifolia Swingle*), fue de $2,41 \%$, resultado bastante cercano al obtenido en la determinación del porcentaje de cenizas de la semilla de naranja, reportado en la Tabla 4.1, esto quiere decir que el contenido total de minerales predomina en las semillas de mandarina, donde las cenizas permanecen como residuo luego de la calcinación de la materia orgánica del alimento.

Las proteínas son necesarias para la formación y renovación de los tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas, y como constituyente de la sangre, etc. Por tal motivo resulta interesante la determinación del contenido de proteínas en semillas oleaginosas, como es el caso de las semillas de mandarina y naranja, cuyo contenido proteico resultó ser de $20,7652 \pm 0,0007\%$ para las semillas de mandarina y de $17,8931 \pm 0,0007\%$ para las semillas de naranja, valores no tan desviado al obtenido al reportado en la bibliografía, (Guevara, E, *et.al.*, 2006) para la semilla de limón que fue de $21,27\%$, lo cual es indicativo de que a nivel proteico, las semillas de la naranja se ve superada por las semillas de mandarina y las semillas de otros cítricos como el limón.

Tabla 4.1. Análisis proximal de las semillas de naranja y mandarina

Parámetros	Mandarina (<i>Citrus Reticulata</i>)	Naranja (<i>Citrus Sinensis</i>)
Humedad ($H \pm 0,007$)%	46,200	49,019
Cenizas en base seca ($C_e \pm 0,05$)%	3,98	2,45
Proteínas en base seca ($P \pm 0,0007$)%	20,7652	17,8931
Calcio en base seca ($C \pm 0,0006$)%	0,3644	0,2588
Grasa en base seca ($G \pm 0,005$)%	44,057	48,158
Fibra cruda en base seca ($F_c \pm 0,009$)%	20,671	24,690
Carbohidratos en base seca ($C_{arb} \pm 0,01$)%	7,76	4,78

En cuanto a la determinación del porcentaje de calcio en las semillas antes mencionadas se obtuvo que para las semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*) el porcentaje de calcio fue de $0,3644 \pm 0,0006\%$ y de $0,2588 \pm 0,0006\%$ para las semillas

de naranja (*Citrus Sinensis*), indica que el mayor aporte para el cumplimiento en el organismo de las funciones plásticas y reguladoras, lo poseen las semillas de mandarina; donde también contribuyen a la formación del esqueleto, cartílagos y dientes. Sin embargo, el contenido de calcio también depende de la riqueza del mineral en el suelo y del tipo de cultivo.

Las grasas se definen como sustancias insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos, tales como cloroformo, hexano, éter de petróleo, entre otros. Las principales fuentes son los tejidos animales y las semillas oleaginosas. El contenido de grasa es un indicativo de la cantidad de ácidos grasos presentes en las semillas en estudio, para las semillas de mandarina fue de $41,057 \pm 0,005\%$ y para las semillas de naranja el contenido de grasas resultó ser de $48,158 \pm 0,005\%$, según los valores representados en la Tabla 4.1, resultados considerablemente más elevados que el porcentaje obtenido en semillas de otros cítricos, tales como el limón que fue de $21,27\%$, por lo que las semillas de naranja poseen mayor contenido de grasa.

La cantidad de fibra cruda presente en las semillas consiste principalmente en el contenido en celulosa, además de la lignina y la hemicelulosa. En las semillas de mandarina este porcentaje fue de $20,671 \pm 0,009\%$ y en las semillas de naranja resultó de $24,690 \pm 0,009\%$, este resultado indica que la contribución de fibra de las semillas de mandarina es ligeramente mayor que en las semillas de naranja y menor que la contribución que aporta el limón mexicano que fue de $29,00\%$.

Finalmente se obtuvo el porcentaje de carbohidratos, el cual resultó de $7,76 \pm 0,01\%$ para las semillas de mandarina y de $4,78 \pm 0,01\%$ para las semillas de naranja, los cuales resultaron más altos que el obtenido en otros trabajos (Guevara, E, *et.al*, 2006) con semillas de limón que fue de $3,26\%$.

4.2. Establecimiento de las variables más importantes que influyen en el proceso de extracción de los aceites de las semillas de naranja y mandarina.

En este objetivo se planteó la determinación de las variables que afectan el proceso de extracción. En el capítulo III, se estableció que la extracción de los aceites de las semillas de naranja y mandarina se realizó empleando dos técnicas: *Destilación por*

arrastre con vapor y la *extracción con solventes volátiles*, empleando el equipo *Tipo Soxhlet*, con la finalidad de determinar el mayor rendimiento.

Una de los factores de mayor influencia en el proceso de extracción es la humedad, por tal razón, las semillas fueron secadas previamente en una estufa a 40°C, durante 24 h, con la finalidad de eliminar el exceso de agua en las semillas, además de facilitar su manejo, almacenaje y conservación. Sin embargo, cabe destacar que para la técnica de *Destilación por arrastre con vapor*, este parámetro no tiene mayor influencia, ya que se emplea vapor de agua como solvente. Mientras que para la *extracción con solventes volátiles* o *Soxhlet*, la cantidad de agua presente en las semillas es un parámetro importante, ya que puede afectar la interacción entre el solvente y la materia vegetal.

Debido a la poca información que se conoce con respecto a la extracción de aceites de las semillas de cítricos, se planteó para cada técnica que los parámetros a variar fueran los siguientes: masa de sustrato, tiempo de extracción y tamaño de partículas.

La estructura se empleó para el diseño del experimento en ambas técnicas fue un arreglo factorial n^3 , donde n representa el número de niveles de cada factor que son dos niveles para cada uno de los casos y el número 3, representa la cantidad de variables a analizar (masa de sustrato, tamaño de partícula y tiempo de extracción).

Para la técnica de *Destilación por arrastre con vapor de agua*, los niveles de masa fueron seleccionados como mínimo 80g y como máximo 100g, ya que el equipo (ver figura 2.3) Permite emplear este rango sin afectar la transferencia por difusión. Con respecto a los niveles en el tiempo de extracción se seleccionaron como tiempo mínimo 20min y como máximo 40min, ya que se ha determinado en trabajos anteriores y que un periodo de tiempo mayor puede ocasionar la degradación del aceite obtenido (Gonzalez, 2007). Finalmente se eligieron los tamaños de partículas de la materia vegetal a utilizar que fueron de 1mm y 2mm.

Para la *extracción con solvente* o *Soxhlet*, los niveles de masa seleccionados fueron: como mínimo 5 g y máximo 15 g, debido a que es el rango de capacidad soportable por el equipo Soxhlet del Laboratorio de Alimentos; empleado para las extracciones de los aceites de las semillas de mandarina y naranja, esta elección se

debe también a investigaciones previas de Rondón, 2009 citado en Ortiz, 2010.

En relación al tiempo de extracción se los niveles empleados fueron: 3 y 5 horas, ya que el tiempo de extracción debe ser suficiente para lograr la efectiva extracción del aceite, pero se debe cuidar que este lapso no sea excesivo, visto que puede influir en la calidad final del aceite y este puede llegar a quemarse ya que no se tiene control de temperatura de extracción.

En cuanto al tamaño de partícula, se empleó dos grados de molienda, siendo éstas de 0,50 mm y 1,00 mm, la selección de las mismas se debió a experiencias previas (Ramírez, 2006, Maradey, 2008 y Rondón, 2009 citado Ortiz, 2010), puesto que se conoce que es más eficiente la extracción a un menor tamaño de partícula, ya que existe una mayor disponibilidad de contacto al aumentar la superficie en que se encuentra el n-hexano y la materia vegetal. A su vez, es importante no descuidar el tamaño de partícula, ya que si es demasiado pequeña disminuye la permeabilidad al disolvente de la capa de sólido, lo que provoca corrientes preferenciales que impiden la extracción en las zonas donde no circula el solvente (Maradey y Rodríguez, 2008).

Una vez establecidas las variables que influyen en el proceso de extracción y el número de replicas, se realizaron las corridas preliminares empleando los métodos operatorios correspondientes, determinando para cada técnica las condiciones más adecuadas para llevar a cabo la extracción de los aceites de las semillas de naranja y mandarina.

4.3. Extracción de los aceites a partir de las semillas de naranja y mandarina a nivel de laboratorio.

Una vez establecidas las variables que intervienen en el método de extracción, se realizan las pruebas o corridas preliminares para ambas técnicas.

Para la extracción mediante la técnica de *Destilación por arrastre con vapor* se determinó que el porcentaje de aceite es muy bajo, casi nulo, por lo que resultó imposible cuantificar el porcentaje de aceite extraído y caracterizarlo. Esto ocurrió al emplear tanto las semillas de naranja como las de mandarina y a pesar de que las semillas provienen de frutos cítricos, esta técnica debe descartarse para la obtención de

los aceites de las semillas de mandarina y naranja, debido a que sólo permite destilar ácidos grasos volátiles.

Mientras que para la *extracción con solvente o Soxhlet*, las pruebas preliminares arrojaron resultados favorables, estableciéndose esta técnica como la técnica a emplear para la obtención de los aceites de las semillas antes mencionadas.

En investigaciones previas (Ramírez, 2006, Maradey, 2008 y Ortiz, 2010), concluyen que el porcentaje de extracción se incrementa cuando se tiene un menor tamaño de partícula, la relación hexano solvente es adecuada y la extracción es realizada por solvente.

De tal manera que las variables analizadas son: masa de la muestra vegetal, tamaño de partícula y tiempo de extracción, las cuales a escala de laboratorio son las más influyentes en el proceso de extracción. Así, los rendimientos obtenidos para cada corrida experimental se muestran en la Tabla 4.2 y 4.3.

Tabla 4.2. Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*) para distintas combinaciones de niveles de las variables involucradas

Masa de semilla (g)	Tamaño de partícula (mm)	Tiempo de extracción (h)	Rendimiento (R ± 0,005)%
5,0000	0,5	3	53,476
		5	55,085
15,0000		3	55,864
		5	45,866
5,0000	1,0	3	44,058
		5	49,017
15,0000		3	44,665
		5	42,378

Se puede apreciar que el mayor rendimiento se presenta para una masa de semillas de mandarina de $15,0000 \pm 0,0001$ g, tamaño de partículas de $0,5 \pm 0,1$ mm y para un tiempo de extracción de 3h, siendo este de $55,864 \pm 0,005$ %.

Tabla 4.3. Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de semillas de naranja (*Citrus Sinensis*) para distintas combinaciones de niveles de las variables involucradas

Masa de semilla (g)	Tamaño de partícula (mm)	Tiempo de extracción (h)	Rendimiento (R ± 0,005)%	
5,0000	0,5	3	53,646	
		5	56,656	
15,0000		3	56,872	
		5	48,132	
5,0000		1,0	3	50,185
			5	47,301
15,0000			3	45,593
			5	44,913

Se puede apreciar que el mayor rendimiento se presenta para una masa de semillas de naranja de $15,0000 \pm 0,0001$ g, tamaño de partículas de $0,5 \pm 0,1$ mm y para un tiempo de extracción de h, siendo este de $56,872 \pm 0,005$ %.

Luego se realizó un análisis de varianza para los aceites extraídos empleando el software estadístico STATGRAPHICS 5.1, arrojando los resultados que se registran en las Tablas 4.4, 4.5, 4.6 y 4.7; tomando en cuenta que el análisis debe hacerse individualmente para cada tipo de aceite. En primer lugar se analizó la varianza para el proceso de extracción del aceite de semillas de mandarina, donde se observa, según la Tabla 4.4, que los factores influyentes se determinan en función del nivel de significancia. Si este valor es menor al 5%, existe la posibilidad de que los valores sean significativos sobre el proceso. (Walpole, 1999 citado en Ramírez, 2006).

Para comprender mejor este concepto estadístico se establecen dos hipótesis: la hipótesis nula (H_0) que establece que ninguna variable tiene influencia directa y controlable sobre el proceso; y la hipótesis alternativa (H_a) que sostiene que existe una relación entre las variables de entrada y de salida. El valor-p, indica la posibilidad de error que existe al rechazar la hipótesis nula, por lo tanto este valor debe ser menor a

0,05 para rechazar la hipótesis nula con solo un 5% de error, si el valor-p o α es mayor a 0,05 no se puede descartar la hipótesis nula ya que el riesgo de considerar una relación inexistente entre las variables es mayor a 5% (Montgomery, 1996).

Tabla 4.4. Análisis estadístico de varianza para la extracción de aceite de la semilla de mandarina (*Citrus Reticulata*)

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Razón-F	Valor-P
Masa de la semilla (A)	81,56	1	81,56	7,33	0,016
Tamaño de partícula (B)	300,52	1	300,52	27,00	0,000
Tiempo de extracción (C)	38,79	1	38,79	3,49	0,051
A*B	0,62	1	0,62	0,06	0,817
A*C	79,71	1	79,71	7,16	0,017
B*C	17,38	1	17,38	1,56	0,229
A*B*C	29,26	1	29,26	2,63	0,124
Total error	178,08	16	11,13	-	-
Total	725,91	23	-	-	-

Tomando en cuenta los resultados que arroja el software estadístico STATGRAPHICS 5.1, se establece que las variables masa de semillas (A), tamaño de partículas (B) y la interacción masa de semillas-tiempo de extracción (A*C) son influyentes en el proceso de extracción, ya que el valor del nivel de significancia es menor al 5% ($P < 0,05$).

Tabla 4.5. Mejores condiciones de extracción para el aceite de semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*)

Factor	Bajo	Alto	Mejores condiciones
Masa de la semilla (A)	5	15	15
Tamaño de partícula (B)	0,5	15	0,5
Tiempo de extracción (C)	3	5	3

De igual manera se analizaron los resultados obtenidos en la extracción de aceite de semillas de naranja estableciendo que las variables: masa de semillas (A), tamaño de partículas (B), tiempo de extracción (C) y las interacciones masa de semillas-tiempo de extracción (A*C) y masa-tamaño de partículas-tiempo de extracción (A*B*C) son influyentes en el proceso de extracción, ya que el valor del nivel de significancia es menor al 5% ($P < 0,05$).

Tabla 4.6. Análisis estadístico de varianza para la extracción de aceite de la semilla de naranja (*Citrus Sinensis*)

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Razón-F	Valor-P
Masa de la semilla (A)	55,878	1	55,878	13,23	0,002
Tamaño de partícula (B)	282,284	1	282,84	66,85	0,000
Tiempo de extracción (C)	33,196	1	33,196	7,86	0,013
A*B	0,967	1	0,967	0,23	0,623
A*C	33,660	1	33,660	7,97	0,012
B*C	56,54	1	56,54	1,30	0,271
A*B*C	73,842	1	73,842	17,49	0,001
Total error	67,566	16	4,223	-	-
Total	548,957	23	-	-	-

En la Tabla 4.6, se aprecia que las variables masa de semillas, tamaño de partículas y tiempo de extracción son los factores predominantes en el proceso, donde a pesar de la influencia de variables adicionales las condiciones más adecuadas para llevar a cabo el proceso coinciden con las establecidas para la extracción del aceite de semillas de mandarina, como lo muestra la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. Mejores condiciones de extracción del aceite de semillas de naranja (*Citrus Sinensis*)

Factor	Bajo	Alto	Mejores condiciones
Masa de la semilla (A)	5	15	15
Tamaño de partícula (B)	0,5	1,0	0,5
Tiempo de extracción (C)	3	5	3

4.4. Realizar el perfil lípidico de los aceites de naranja y mandarina con el propósito de conocer su composición.

En forma pura, todas las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos (o triglicéridos), los que a su vez son ésteres de ácidos grasos con glicerol; por consiguiente, dichos ácidos representan un gran porcentaje de la composición de los triacilglicéridos y en consecuencia de las grasas y los aceites (Carreño, 2006).

Las diferencias de estabilidad a la oxidación, de plasticidad, de estado físico, de patrón de cristalización, de índice de yodo, de temperaturas de solidificación y de fusión, de las grasas y los aceites se deben fundamentalmente a sus ácidos grasos constituyentes (Dergal, 2006).

En la Tabla 4.8 se presenta el perfil lípidico o de ácidos grasos que se obtuvo de una cromatografía de gases realizada a los aceites de mandarina y naranja, cumpliendo con la Norma COVENIN 2281-1998. El informe de cromatografía de gases para los aceites crudos de ambos tipos de semillas se puede apreciar en el apéndice D.

En el aceite obtenido de las semillas de mandarina, los ácidos grasos con mayor proporción son el linoléico con 35,2% y el oleico con un 30,8%, algo similar ocurre con el aceite extraído de las semillas de naranja, donde los ácidos grasos en mayor proporción son el linoléico con 33,9% y el oleico con un 27,7%. Los aceites generalmente son nombrados de acuerdo al ácido graso que se encuentra en mayor proporción, según la Tabla 4.8, tanto el aceite de semillas de mandarina como el de semillas de naranja se nombra como aceite linoléico.

Tabla 4.8. Perfil de ácidos grasos de los aceites de las semillas mandarina (*Citrus Reticulata*) y naranja (*Citrus Sinensis*)

Ácidos Grasos (%)	Número de Carbonos e insaturaciones	Aceite de semillas de mandarina	Aceite de semillas de naranja
Ácido caprílico	C 8:0	0,1	0,0
Ácido cáprico	C 10:0	0,0	0,0
Ácido Láurico	C 12:0	0,0	0,0
Ácido Mirístico	C 14:0	0,1	0,1
Ácido Palmítico	C 16:0	23,4	27,7
Ácido Palmitoleico	C 16:1	0,5	0,4
Ácido Esteárico	C 18:0	6,7	5,9
Ácido Oleico	C 18:1	30,8	27,7
Ácido Linoléico	C 18:2	35,2	33,9
Ácido Linolénico	C 18:3	2,6	3,6
Ácido Araquídico	C 20:0	0,7	0,5
Ácido Erúcico	C 20:1	0,2	0,1

Los ácidos linoléico y el linolénico están considerados como ácidos grasos indispensables, por esta razón, el organismo requiere un consumo continuo, se recomienda que representen de 1 a 2% de los lípidos totales ingeridos. Forman parte constitutiva de diferentes tejidos celulares, son precursores del ácido araquidónico necesario para darle rigidez a la mitocondria y son empleados en la síntesis de las hormonas prostaglandinas. Contribuyen al mantenimiento de la piel, del cabello y del sistema reproductivo, así como en la regulación del metabolismo del colesterol; ayudan a la absorción de nutrimentos, a la regulación de la contracción muscular y de la presión arterial, y fortalecen el crecimiento de las células sanas (Dergal, 2006).

Adicionalmente, se sabe que los ácidos linoléico y oleico son ácidos grasos insaturados que participan activamente en la construcción de las capas superiores de la

epidermis e impiden la deshidratación, pérdida de la elasticidad y ataque de los radicales libres que son causas del deterioro de la piel (Ramirez, 2006).

4.5. Caracterización de los aceites extraídos

Para la caracterización de los aceites extraídos de las semillas de mandarina y naranja se realizaron pruebas específicas según la norma venezolana COVENIN, verificando si cumplen con los requisitos exigidos por la misma, los resultados se encuentran en la Tabla 4.9.

La acidez libre en una grasa o productos derivados puede expresarse de diversas formas, por lo que cuando se trata de aceites y grasas comestibles se expresa la acidez en porcentaje de ácidos grasos libres, mientras que el índice de acidez o de neutralización se emplea para ácidos grasos y jabones comerciales.

El índice de acidez de los aceites de las semillas de naranja y mandarina fueron de $2,1085 \pm 0,05$ mg NaOH/g aceite, expresado como ácido oleico para el aceite de mandarina y de $2,6708 \pm 0,05$ mg NaOH/g aceite, expresado como ácido oleico para el aceite de naranja, los resultados se expresan como ácido oleico, porque es uno de los ácidos grasos que se encuentran en mayor proporción en ambos aceites. Ninguno de los aceites se encuentra en el rango permitido para el índice de acidez.

El índice de yodo es una medida de la insaturación de los ácidos grasos, y se expresa en términos del número de centigramos de yodo absorbido por gramo de muestra (% de yodo absorbido). El índice de yodo para el aceite extraído de las semillas de mandarina fue de $90,1 \pm 0,7$ cg l/g aceite y para el aceite extraído de las semillas de naranja de $103,2 \pm 0,7$ cg l/g aceite, ambos aceites se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la norma correspondiente.

La presencia de peróxidos derivados de los ácidos grasos presentes en la muestra se denomina como índice de peróxido, donde según la norma el valor máximo permitido debe ser igual a 2 meq O_2 /g en planta y de 5 meq O_2 /g en mercado, los aceites obtenidos, cumplen con los requerimientos establecidos por la norma en mercado con un índice de peróxido de $5,0 \pm 0,2$ meq O_2 /g para el aceite de semillas de mandarina y de $3,6 \pm 0,2$ meq O_2 /g para el aceite de semillas de naranja. Estos resultados

posiblemente se deben a la aceleración del proceso oxidativo por las altas temperaturas suministradas en la extracción y al tiempo prolongado el mismo.

Tabla 4.9. Propiedades fisicoquímicas del aceite crudo de la semilla

Análisis	Aceite de semillas de mandarina	Aceite de semillas de naranja	Requerimientos Normas COVENIN
Índice de acidez ($I_A \pm 0,05$) mg NaOH/g aceite	2,11	2,70	Menor a 2
Índice de yodo ($I_I \pm 0,7$) cg I/g aceite	90,1	103,2	(56-145)
Índice de peróxidos ($I_p \pm 0,2$) meq O ₂ /g aceite	5,0	3,6	Planta:2, Mercado:5
Índice de saponificación ($I_s \pm 0,9$) mg KOH/g aceite	209,2	206,7	(180-210)
Índice de refracción ($I_R \pm 0,0003$) adim	1,4680	1,4686	(1,457-1,470)
Densidad relativa ($\rho_R \pm 0,00004$) adim	0,90043	0,91563	(0,896-0,926)

En los aceites, el índice de saponificación denota la reacción entre álcali y grasa, dando como resultado la formación de jabón. Según la norma COVENIN 323:1998 el índice de saponificación debe oscilar entre (180-210)mg KOH/g aceite. En esta investigación los valores obtenidos fueron de $209,2 \pm 0,9$ mg KOH/g aceite para el aceite de semillas de mandarina y de $206,7 \pm 0,9$ mg KOH/g aceite para el aceite de semillas de naranja, cumpliendo así con lo establecido por la norma, demostrando que estos aceites muestran un potencial uso en la industria de jabón y cosméticos, ya que los mejores aceites empleados para tal fin, deben poseer índices de saponificación elevados.

El índice de refracción de los aceites vegetales debe oscilar entre (1,457-1,470) a temperatura ambiente según la norma COVENIN 702:2001. El valor obtenido para el aceite de la semilla de mandarina fue de $1,4680 \pm 0,0003$ adim y para el aceite de semillas de naranja de $1,4686 \pm 0,0003$ adim, encontrándose dentro del rango establecido por la norma.

La densidad relativa o aparente expresa la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua. Para los aceites de las semillas de mandarina y naranja, la densidad relativa fue de $0,90043 \pm 0,00004$ adim y de $0,91563 \pm 0,00004$ adim, respectivamente, la cuales se encuentran dentro de los parámetros señalados por la norma COVENIN 703:2001.

Los resultados de la evaluación de irritabilidad dérmica para el aceite de semillas de mandarina pueden observarse en la Tabla 4.10, (Rodríguez A, *et.al*, 1996) donde se aprecia que no hay aparición de edemas y eritemas en las zonas de aplicación, entonces el índice de irritabilidad dérmica del aceite, de acuerdo con los resultados de las evaluaciones es cero.

Tabla 4.10. Evaluaciones obtenidas en el test de irritabilidad dérmica del aceite de semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*)

Horas	4		24		48		72	
Parche	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

A: Edema, B: Eritema.

En la siguiente figura se muestra la ejecución del test de irritabilidad dérmica, se observa la piel de los conejos antes y después del tratamiento, verificando que la piel conserva su tonalidad rosa y sin presencia de edemas y eritemas, tal como se demostró en la Tabla anterior.

Con base a estos resultados se aplica la escala de Drize, lo que permite clasificar a este aceite como no irritante, lo cual no impide su aplicación tópica.



Figura 4.1 Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica con aceite de semillas de mandarina

De manera similar, se evalúa la irritabilidad dérmica en el aceite de naranja, obteniéndose los resultados que se reportan en la Tabla 4.11, donde se observa que no hay aparición de edemas y eritemas, por lo tanto el índice de irritabilidad dérmica, también es igual a cero y el aceite de naranja se clasifica como no irritante, permitiendo su aplicación tópica.

Tabla 4.11. Evaluaciones obtenidas en el test de irritabilidad dérmica del aceite de semillas de naranja (*Citrus Sinensis*)

Horas	4		24		48		72	
Parche	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

A: Edema, B: Eritema

En la siguiente figura, se muestra la evolución del test de irritabilidad dérmica en la aplicación del aceite de semillas de naranja, corroborando que no hay presencia de edemas y eritemas, la piel conserva su apariencia inicial.



Figura 4.2 Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica con aceite de semillas de naranja

La irritabilidad oftálmica u ocular se evalúa mediante los resultados reportados en la Tabla 4.12., donde se observa que hay presencia de enrojecimiento moderado e inflamación intensa, durante las primeras 4 horas de la instilación de aceite de semilla de mandarina en el saco conjuntivo del ojo los conejos. Luego de transcurridas 24 horas después de la aplicación del aceite, no se observa enrojecimiento e inflamación. Para las evaluaciones a las 48 y 72 horas, tampoco se observan signos de irritación e inflamación, en la Figura 4.3, se aprecia la ejecución de este test.

Según lo expresado en la Tabla anterior, el índice de irritabilidad ocular del aceite de semillas de mandarina es igual a 2. En base a las observaciones y empleando la escala de Drize, se clasifica este aceite, como moderadamente irritante al contacto con el globo ocular.

Tabla 4.12. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del aceite de semillas de mandarina (*Citrus Reticulata*)

Instilación	Horas			
	4	24	48	72
1	2	0	0	0
2	2	0	0	0
3	2	0	0	0

Según lo expresado en la Tabla anterior, el índice de irritabilidad ocular del aceite de semillas de mandarina es igual a 2. En base a las observaciones y empleando la escala de Drize, se clasifica este aceite, como moderadamente irritante al contacto con el globo ocular.



Figura 4.3 Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular con aceite de semillas de mandarina

De igual forma, se evalúa para el aceite de semillas de naranja, la irritabilidad ocular, mediante el test correspondiente. Los resultados se reportan en la Tabla 4.13, en la que también se puede apreciar que hay presencia de enrojecimiento moderado e inflamación intensa, durante las primeras 4 horas de la inoculación del aceite.

Tabla 4.13. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del aceite de semillas de naranja (*Citrus Sinensis*)

Instilación	Horas			
	4	24	48	72
1	2	0	0	0
2	2	0	0	0
3	2	0	0	0

Transcurridas 24 horas después de la aplicación, no se observa enrojecimiento e inflamación. Para las evaluaciones a las 48 y 72 horas, tampoco se observan signos de irritación e inflamación, esto se puede corroborar en la Figura 4.4.



Figura 4.4 Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular con aceite de semillas de naranja

El índice de irritabilidad ocular es igual a 2, lo que permite clasificar el aceite de semillas de naranja como moderadamente irritante del globo ocular.

4.6. Elaboración el producto natural para limpieza facial, siguiendo una formulación base.

Las emulsiones cosméticas son las más variadas en cuanto a tipos y formas. Las

propiedades que ofrecen son aportadas por los principios activos que contienen. Los aceites de mandarina y naranja poseen un alto porcentaje en ácidos grasos insaturados, que aportan como principio activo la hidratación de la piel, mejorando su estructura (Beierdorf, 2005).

Las emulsiones o cremas limpiadoras son unos de los mejores recursos para mantener la piel de la cara en buenas condiciones. A diferencia de los jabones las cremas son capaces de arrastrar más impurezas y al mismo tiempo respetan el pH de la piel, ya que en su fabricación se emplea una cantidad agua destilada que no resulta agresiva para la misma.

Tabla 4.14. Composición química del producto cosmético para limpieza facial

Fase	Compuesto	Cantidades
Acuosa	Agua destilada c.s.p	100 g
	Lauril sulfato de sodio	2 g
	Metilparabeno	1,8 g
	Propilparabeno	0,2 g
Oleosa	Alcohol cetílico	12 g
	Tween 80 (Polisorbato -80)	2,5 g
	Acido esteárico	6 g
	Vaselina	10 g
	Vitamina E	2400 UI
Principio activo	Aceites de semillas de naranja y mandarina	10 g

Los excipientes del producto cosmético para limpieza facial se clasifican en agentes microbianos (metilparabeno y propilparabeno), ingredientes que aportan consistencia y estabilidad (agua destilada, lauril sulfato de sodio, tween 80, ácido esteárico), además de agentes emolientes y humectantes (vaselina, alcohol cetilico) ver Tabla 4.14.

La formulación del producto se realiza tomando como modelo o referencia formulaciones base de excipientes y estableciendo el porcentaje de principio activo a agregar, según lo requiera el producto, esta cantidad dependerá de las propiedades que se desea que tenga el preparado cosmético (loción limpiadora, humectante, etc).

Las formulaciones del excipiente base se establecen según la estabilidad que posean las mismas y teniendo en cuenta no exceder el contenido máximo permitido de cada sustancia empleada. El excipiente seleccionado es una emulsión de aceite en agua (O/W).

El producto cosmético desarrollado es almacenado en cantidades de 50 g en envases plásticos de 50 cm³ de capacidad, debido a su inocuidad sobre el producto y fácil manejo.

El producto cosmético desarrollado es almacenado en cantidades de 50 g en envases plásticos de 50 cm³ de capacidad, debido a su inocuidad sobre el producto y fácil manejo. La función del envase es conservar el producto. Puede estar fabricado en diferentes materiales, siempre que permita contener el producto, permitir su identificación, capacidad de proteger el producto, que sea resistente, que permita manipularlo y además que cumpla con las legislaciones vigentes.

4.7. Caracterización el producto cosmético natural para limpieza facial.

Las propiedades físicas del producto cosmético desarrollado se observan en la Tabla 4.15. Las propiedades estudiadas fueron: densidad y viscosidad dinámica.

Tabla 4.15. Propiedades físicas del producto cosmético

Propiedad del producto cosmético	Valor de la propiedad
Densidad ($\rho_{pc} \pm 0,0001$)adim	1,1683
Viscosidad dinámica ($\mu_{pc} \pm 0,1$)cP	21000,0 cP

En lo referente a las pruebas de estabilidad, estas permiten garantizar que las propiedades físicas y químicas del preparado se mantengan constantes durante un periodo de tiempo. Para el estudio de la estabilidad se realiza el ensayo de estrés acelerado o estrés térmico.

Los resultados obtenidos del estrés acelerado luego de un seguimiento de 7 días, se observan en la Tabla 4.16 y la Figura 4.5, donde se aprecia que los valores de pH y color se mantienen a temperatura ambiente y a 10°C, a estas temperaturas, no se evidencia separación de fases. A la temperatura de 40 °C, el producto cosmético tuvo un cambio en su apariencia, el color se intensificó y se hizo más sólido. Esto pudo estar relacionado con la evaporación de parte del agua de la fase acuosa, ya que los componentes de la fase oleosa son en su mayoría sólidos que se funden a temperaturas no superiores a 70°C. Por lo que se recomienda guardar el producto cosmético en un lugar fresco o a temperatura ambiente para conservar sus propiedades

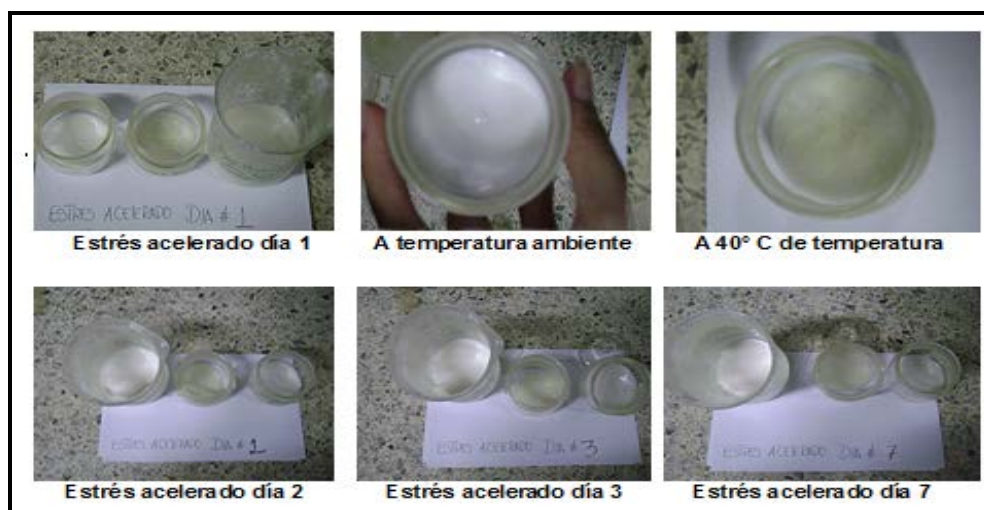


Figura 4.5 Prueba de estabilidad del producto cosmético

El pH de la emulsión fue de 6,5, lo que podría considerarse casi neutro, ya que el rango de pH en una crema cosmética limpiadora está en un rango comprendido entre 5 y 8, se puede concluir que está en el rango permitido y que su aplicación no alterará el pH natural de la piel.

Tabla 4.16. Estabilidad del producto cosmético por estrés acelerado

Muestra	Temperatura (°C)	pH	Apariencia	Separación de fases
1	10	6,50	Blanco	No
2	Ambiente	6,50	Blanco	No
3	40	6,50	Blanco	No

Las propiedades organolépticas son aquellas características que pueden valorarse cualitativamente. Los resultados obtenidos para las pruebas organolépticas se pueden apreciar en la tabla 4.17.

Tabla 4.17. Propiedades organolépticas del producto cosmético

Color	Olor	Brillo	Apariencia
Blanco, ligero matiz verde	Características de la esencia	Posee brillo	Semisólida

La tonalidad y el brillo del producto facial se la confieren los ingredientes activos que para esta investigación son los aceites de las semillas de naranja y de mandarina, mientras que el olor se lo proporciona la esencia de cítricos que se añadió al preparado para enmascarar el olor de los aceites vegetales o fijos, antes mencionados.

Las emulsiones, especialmente las O/W, son muy susceptibles a contaminación microbiológica, esta contaminación puede provenir de las materias primas con más riesgo a contaminarse como el agua o algunos extractos provenientes de materias vegetales o de los envases que puedan favorecerla. Por tal motivo se realizan controles microbiológicos para corroborar no se produce contaminación ni que los conservantes puedan ser inhibidos por la acción de los emulgentes empleados. Las pruebas microbiológicas realizadas al producto cosmético facial se aprecian en la Tabla 4.18.

Tabla 4.18. Propiedades microbiológicas del producto cosmético

Aerobios mesófilos UFC/g	Pseudomonas aeruginosa UFC/g	Staphylococcus aureus UFC/g	Mohos UFC/g	Levaduras UFC/g
3	<1	<1	<1	<1

Según los resultados arrojados por el estudio microbiológico descritos en la Tabla anterior, se aprecia que todas las pruebas realizadas, se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles para la formación de colonias bacterianas, establecidos en la norma COVENIN 2130:1998, asegurando así los parámetros de calidad en cuanto a la asepsia y cantidad adecuada de agente microbiano en la elaboración del producto.

Finalmente se estudió el comportamiento biológico o sensibilidad de producto cosmético. En el ensayo de irritabilidad dérmica, se evalúan los resultados que se reportan en la Tabla 4.19, allí se aprecia la ausencia de edemas y eritemas, por lo tanto el índice de irritabilidad dérmica es igual a cero y el producto cosmético se clasifica como no irritante, permitiendo su aplicación tópica. Esto se corrobora en la Figura 4.6, donde se observa la ejecución del ensayo.

Tabla 4.19. Evaluación en el test de irritabilidad dérmica del producto cosmético

Horas	4		24		48		72	
Parche	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

A: Edema, B: Eritema



Figura 4.6 Ejecución y avance del test de irritabilidad dérmica del producto cosmético

Finalmente se evalúa la irritabilidad ocular u oftálmica del producto cosmético, según la Tabla 4.20, los resultados demuestran que la inoculación del producto en los ojos de los conejos, produce una irritación leve durante las primeras 4 horas de la aplicación mismo, para el resto de las evaluaciones a las 24, 48 y 72 horas, no se observa enrojecimiento, ni inflamación del globo ocular.

Tabla 4.20. Evaluaciones de enrojecimiento e inflamación obtenidas en el test de irritabilidad ocular del producto cosmético

Horas				
Colocación o aplicación del producto	4	24	48	72
1	1	0	0	0
2	1	0	0	0
3	1	0	0	0

El índice de irritabilidad ocular es igual a 1, lo que permite clasificar el producto como levemente irritante. La ejecución de este test puede observarse en la Figura 4.7.

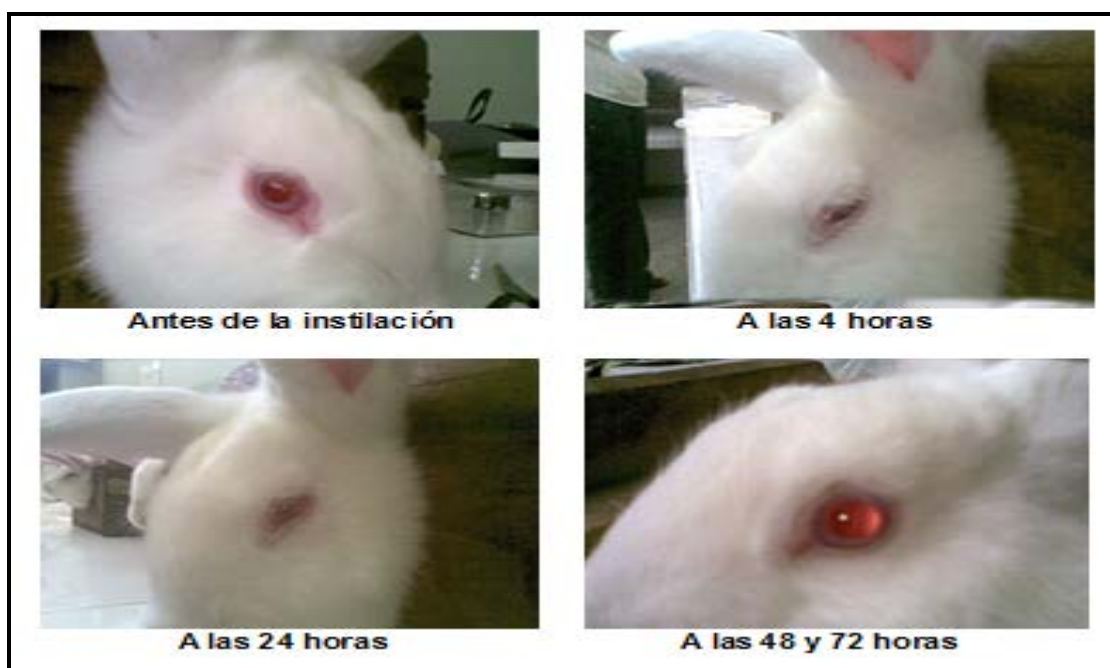


Figura 4.7 Ejecución y avance del test de irritabilidad ocular del producto cosmético

Los resultados obtenidos en las pruebas de irritabilidad a las que fueron sometidos tanto los ingredientes activos, como el producto cosmético, permiten concluir que la composición de los excipientes establecida para la formulación del crema limpiadora, no afecta la inocuidad del producto y que su aplicación, no ocasionara daños en el piel. Sin embargo, es importante advertir que debe evitarse el contacto con los ojos y en caso de que ocurra, lavar inmediatamente con abundante agua.

CONCLUSIONES

1. El análisis proximal para las semillas de *Citrus Reticulata* en humedad, cenizas, proteínas, calcio, grasa cruda, fibra cruda y carbohidratos fueron: $46,200 \pm 0,007$ %, $3,98 \pm 0,05$ %, $20,7652 \pm 0,0007$ %, $0,3644 \pm 0,0006$ %, $44,057 \pm 0,005$ %, $20,671 \pm 0,009$ % y $7,76 \pm 0,01$ % respectivamente.
2. El análisis proximal para las semillas de *Citrus Sinensis* en humedad, cenizas, proteínas, calcio, grasa cruda, fibra cruda y carbohidratos fueron: $49,019 \pm 0,007$ %, $2,45 \pm 0,05$ %, $17,8931 \pm 0,0007$ %, $0,2588 \pm 0,0006$ %, $48,158 \pm 0,005$ %, $24,690 \pm 0,009$ % y $4,78 \pm 0,01$ % respectivamente.
3. Las variables masa de semilla, tamaño de partículas y la interacción entre ellas influyen significativamente en el proceso de extracción del aceite de semilla de *Citrus Reticulata*.
4. Las variables masa de semilla, tamaño de partículas, tiempo de extracción y las interacciones masa-tamaño de partículas y masa-tamaño de partículas-tiempo de extracción influyen significativamente en el proceso de extracción del aceite de semilla de *Citrus Sinensis*.
5. Las mejores condiciones de extracción para ambos tipos de aceites son: 0,5 mm de tamaño de partículas, 5,0000 gramos de semillas y 5 horas de extracción, obteniendo un rendimiento de $55,864 \pm 0,005$ % para el aceite de semillas de *Citrus Reticulata* y $56,872 \pm 0,005$ %, para el aceite de *Citrus Sinensis*.
6. El perfil lípidico de los aceites de semillas de *Citrus Reticulata* está constituido por 30,9% de ácidos grasos saturados y 69,1% de ácidos grasos insaturados y el aceite de *Citrus Sinensis*, está constituido por 34,2% de ácidos grasos saturados y 65,8% de ácidos grasos insaturados.
7. Las pruebas de identidad y calidad de los aceites crudos de semillas de mandarina y naranja se encuentran dentro de los rangos establecidos por la norma COVENIN 30: 1997, excepto el índice de acidez.

8. Los aceites crudos de semillas de *Citrus Reticulata* y *Citrus Sinensis*, aplicados tópicamente se pueden calificar como no irritantes de la piel, pero moderadamente irritantes de los ojos.
9. El color del producto facial es blanco con un ligero matiz verdoso, con olor característico a la esencia de cítricos, de apariencia semisólida, con un pH de $6,50 \pm 0,01$, su densidad relativa a temperatura ambiente es de $1,1683 \pm 0,0001$ adim y viscosidad dinámica a 40°C y 10 rpm de $21000,0 \pm 0,1$ cP.
10. El ensayo de estabilidad del producto demostró que se mantienen las propiedades de color, olor, apariencia y pH, además el análisis microbiológico de colonias bacterianas, conteo de hongos, levaduras, pseudomonas y staphilococcus aureos, están por debajo de los límites permisibles por la norma COVENIN 2130:1998.
11. La emulsión que contiene aceite de semillas de naranja y mandarina aplicada tópicamente se puede calificar como no irritante de la piel, pero ligeramente irritante de los ojos.

RECOMENDACIONES

1. Conservar el aceite crudo en frascos ámbar para evitar el paso de luz a través de la misma y preservar sus propiedades.
2. Realizar la prueba de peróxido al terminar la extracción y evitar la posible oxidación del mismo, no esperar tiempos prolongados para la realización de este análisis.
3. Realizar la refinación y caracterización del aceite para determinar su aplicación en el área de la industria de alimentos.
4. Iniciar planta piloto para la obtención del aceite de semillas de mandarina y naranja tomando como base la presente investigación.
5. Continuar con la presente línea de investigación bajo diferentes temperaturas de secado de la semilla y estudiar la influencia de la misma en la extracción de aceite.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Badui-Dergal, S. (1999) "*Química de los alimentos*". 4ta. Edición. Editorial Addison Wesley.
2. Beierdorf. (2005) [Revista en línea] Disponible en: <http://www.eucerin.es> [Consulta: 2011, Marzo]
3. Bravo, R. y Pérez, S. (2005). *Factibilidad de desarrollar un producto cosmético empleando como principio activo el aceite extraído de una semilla vegetal*. Trabajo especial de grado no publicado, Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Valencia, Venezuela.
4. Carreño, S. (2006). *Evaluación del proceso de extracción y de las propiedades físico-químicas del aceite de la pulpa del fruto del aguacate*. Trabajo especial de Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Venezuela.
5. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1979). Alimentos para Animales. "Determinación de Fibra Cruda". N° 1194-79.
6. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1979). Alimentos para Animales. "Determinación de la humedad". N° 1156-79.
7. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1980). Alimentos. "Determinación de Nitrógeno". Método de Kjeldahl. N° 1195:1980.
8. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1982). Alimentos. "Determinación de Calcio". Método de Referencia. (1^{ra} Revisión). N° 1158-82.
9. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1996). Alimentos. "Determinación de la Grasa Libre". N° 3218:1996.
10. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1997). Aceites Vegetales Comestibles. "Norma General". (3^{ra} Revisión) N° 30:1997.
11. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1998). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación del Perfil de Ácidos Grasos e índice de Yodo por cromatografía de gases". (2^{da} Revisión). N° 2281:1998.

12. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1998). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación del Índice de Saponificación". (2^{da} Revisión). N° 323:1.998.
13. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 2.001. Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación de Cenizas". (3^{ra} Revisión) N° 328:2001.
14. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (2001). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación del Índice de Refracción". (2^{da} Revisión). N° 702: 2.001.
15. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (2001). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación del Índice de Peróxidos". (2^{da} Revisión). N° 508:2001.
16. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (2001). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación de la Densidad Relativa". (3^{ra} Revisión). N° 703:2001.
17. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (2001). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación del índice de Yodo por el método de Wijs". (4^{ta} Revisión). N° 324:2001.
18. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (2001). Aceites y Grasas Vegetales. "Determinación de la Acidez". (3^{ra} Revisión). N°325:2000.
19. Cosméticos y tecnología. (2010). [Revista en línea]. Disponible en: <http://www.cosmeticsonline.la>
20. Delgado, R. y Ramírez M. (2006). *Desarrollo de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite de la semilla de merey (Anacardium occidentale L.)*. Trabajo especial Publicado. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Valencia, Venezuela.
21. FAO. (2008). Resumen estadístico: Cosecha de naranja y mandarina, 2008 [Datos en línea]. Disponible: <http://www.rlc.fao.org>. [Consulta: 2010, Diciembre 10].
22. Fereidoon, S. (1997). "*Natural antioxidants: chemistry; health effects and applications*", AOCS Press.
23. García, M., et. al. (2003). *Toxicidad subcronica y prueba de irritabilidad ocular del*

- extracto acuoso de las hojas de plantago mayor (Plantaginaceae)*. Revista de Biología Tropical. Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.
24. Gil, E. y Sáez, A. (2005). *Evaluación a escala piloto del proceso industrial para la obtención del aceite esencial de cardamomo bajo la filosofía "cero emisiones"*. Universidad EAFIT. Grupo de Investigación de procesos ambientales y biotecnológicos. Medellín. Colombia.
25. Gonzalez, C. y Pereira, G. (2007). *Evaluación de la actividad insecticida del aceite de Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M. Perry en el control e adultos de nastrepha obliqua (Macquart) (Diptera: Tephritidae)*. Trabajo Especial de grado no publicada. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería. Venezuela.
26. González G. y Toro, S. (2010). *Evaluación de las propiedades del aceite de pulpa del fruto de pijigao (Bactris Gasipaes H.B.K) para su aplicación en la industria cosmética*. Trabajo Especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería. Venezuela.
27. Guevara, E. y Herrera T., et.al. (2006). *Estudio preliminar de las propiedades de la semilla de limón mexicano (Citrus aurantifolia swigle) para sus posibles usos*. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías.
28. Guerrero, A. (2008). Cultivos cítricos venezolanos. Disponible en: <http://www.hort.produc.edu.ve>. [Consulta:2010, Octubre]
29. Lide, David. (2005). CRC Handbook of chemistry and physics (76 ed). Unite State of America. Editorial advisory Board.
30. Linares, O. (2005). *Química de las grasas y aceites*. Programa avanzado de tecnología de alimentos.
31. Maradey, P. y Rodríguez, J. (2007). *Desarrollo de un preparado facial con fines exfoliantes a partir del aceite extraído de una semilla vegetal*. Trabajo Especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería. Venezuela.

32. Martínez, J., *et.al.* (2003). *Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina*. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia.
33. Mieres-Pitre, A., *et.al.* *Refinación del aceite crudo de durazno (prunus pérsica) y su caracterización*. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería. Venezuela.
34. Montañés, L. (2005). *Desarrollo de un bioinsecticida a partir de la azadiractina (Azadirachtina indica) presente en el aceite de Neem*. Trabajo Especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Valencia, Venezuela.
35. Montgomery, D. y Runger, G. (1996). *Probabilidad y Estadística aplicada a la Ingeniería*. Mc Graw Hill. México.
36. Ojeda M. (2005). *Extracción de aceites aromáticos comerciales*. Disponible en: [http:// www.aceitesaromaticos.com](http://www.aceitesaromaticos.com). [Consulta: 2010, Noviembre].
37. Ortiz, J., Wu ng, Y. (2010). *Evaluación comparativa del rendimiento del proceso de extracción para la obtención del aceite de dos variedades de la semilla de pijiguao bajo un esquema de secado a 50°C*. Trabajo Especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Valencia, Venezuela.
38. Pérez C., Torres L. (2005). *Lineamientos metodológicos para la redacción y elaboración del plan de trabajo*. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería. Venezuela.
39. Reyes A., Castro H., *et.al.* (2007). *Obtención de extractos de jengibre (Zingiber officinale) mediante métodos tradicionales y dióxido de carbono supercrítico*. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Química. Facultad de ciencias.
40. Ríos, L., Lopera G., *et.al.* (2007). *Extracción y caracterización del aceite de cardamomo (Elletaria Cardamomum)*. Universidad de Antioquia. Medellín. Grupos de procesos químicos aplicados.
41. Rodríguez, A., *et.al.* (1996). *Prueba de irritabilidad dérmica primaria del Plantago mayor L*. Revista cubana Plant Med. Instituto Superior de Ciencias medicas de Camagüey "Carlos J. Finlay".

APÉNDICE A

MÉTODOS OPERATORIOS

En esta sección se realiza la descripción del método operatorio que se empleó para la operación de los equipos empleados en la investigación.

A.1. Método operatorio del equipo de destilación por arrastre con vapor.

Arranque

1. Moler o triturar la materia vegetal y tamizarla hasta obtener un tamaño de partícula de 1-2 mm.
2. Pesar la materia vegetal a emplear, según lo indicado en el diseño experimental
3. Verter en el tanque aproximadamente 1 L de agua.
4. Colocar la materia vegetal esparcida por guata, en una cesta metálica, cuyo diámetro coincide con el del tanque, colocando la cesta dentro del tanque a cierta distancia del nivel del agua.
5. Colocar el tanque sobre la plancha de calentamiento y ajustarle la tapa.
6. Conectar el condensador serpentín a la trampa tipo Clevenger; a su vez conectar este orificio de la tapa del tanque.
7. Encender el baño térmico y hacer circular el refrigerante por el condensador, abriendo completamente la válvula de paso de refrigerante.
8. Suministrar calor al sistema, encendiendo la plancha de calentamiento y colocando el interruptor en la posición 7 e inmediatamente accionar el cronometro.

Operación

9. Registrar la temperatura en el tanque inmediatamente cuando cae la primera gota de destilado, seguidamente colocar el interruptor de la plancha de calentamiento en la posición establecida previamente.

10. Una vez transcurrido el tiempo de extracción establecido, recolectar el destilado en un beaker previamente identificado.
11. Registrar el volumen del destilado.
12. Verter el contenido del vaso de precipitado a un embudo de decantación, con la misma identificación del vaso, inmediatamente tapar el embudo.
13. Decantar la fase orgánica a un tubo de ensayo, identificado igual al embudo, desechando la fase acuosa.
14. Desechar la fase orgánica, agregando sulfato de sodio anhidro al tubo de ensayo hasta saturar la fase.
15. Decantar el aceite obtenido del proceso de desecación en el envase recolector.
16. Pesar el envase lleno con el aceite.
17. Agregar al envase recolector uno o dos cristales de butilhidroxitolueno (BHT).
18. Refrigerar el aceite obtenido a una temperatura de 5 a 10°C.

Parada

19. Apagar y desenchufar los equipos, una vez culminado el tiempo de extracción.
20. Esperar que condense el vapor remanente el sistema hasta observar la ausencia de destilado.
21. Esperar que se enfríe el sistema, aproximadamente 30 minutos.
22. Desmontar el equipo de vidrio y lavar con suficiente agua.

Normas de seguridad

- Usar guantes térmicos en el manejo de los materiales y equipos del sistema, para evitar quemaduras.
- En caso de fugas en las conexiones del baño térmico y el condensador serpentín, apagar el baño y ajustar de nuevo las conexiones de las mangueras.
- Evitar la exposición del aceite al aire y luz, para evitar la posible

degradación de los componentes del aceite.

A.2. Método operatorio del Equipo de extracción Soxhlet a escala de laboratorio.

Arranque

1. Abrir la válvula de alimentación del agua al condensador.
2. Encender la plancha de calentamiento del equipo de extracción y fijarla a 80°C aproximadamente.
3. Llenar el balón de extracción con hexano hasta aproximadamente un 80% de su capacidad.
4. Depositar el dedal de celulosa con la semilla en estudio seca en el vaso soxhlet.

Operación

5. Unir el balón de extracción al vaso soxhlet y acoplarlo al condensador del equipo.
6. Esperar la ebullición del solvente y disminuir el dial de calentamiento hasta aproximadamente 68°C.
7. Una vez que caiga la primera gota de solvente en el vaso soxhlet comenzar a tomar el tiempo de extracción.

Recuperación del hexano

8. Finalizado el tiempo de extracción se desincorpora el sistema vaso soxhlet–balón de extracción, y se extrae el dedal de celulosa.
9. Fijar nuevamente al condensador y esperar la destilación del hexano al menos tres veces.
10. Una vez culminada la destilación desincorporar el sistema soxhlet –balón de extracción e ir vaciando el hexano del vaso hasta la casi completa vaporización del solvente en el balón.
11. Bajar el balón de extracción y colocarlo en la estufa.

Parada

12. Colocar el dial de la plancha de calentamiento en cero.
13. Cerrar la válvula de agua que alimenta el condensador.

Normas de seguridad

- Manejar con pinzas y guantes el balón de extracción y el vaso sofhlet del equipo de extracción una vez que se realice la etapa de recuperación.
- Realizar en la campana la recuperación del hexano, ya que debido a su bajo punto de ebullición puede vaporizarse a temperatura ambiente.
- Portar bata de laboratorio y mascara durante la recuperación.
- Trabajar con zapatos cerrados.

A.3. Método operatorio del Viscosímetro de Brookfield.

Procedimiento

1. Colocar aproximadamente 500 g del preparado en un beaker.
2. Seleccionar un número en la aguja adecuada.
3. Colocarla al viscosímetro y encenderlo.
4. Introducir la aguja del viscosímetro en la sustancia a la cual se le desea determinar la viscosidad en este caso al preparado.
5. Seleccionar las revoluciones por minuto.
6. Tomar nota de la viscosidad y la temperatura.

APÉNDICE B

DATOS EXPERIMENTALES

En éste apéndice se presentan todas tablas utilizadas para el registro de los datos durante la fase experimental para el alcance del objetivo general.

TABLA B.1

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de humedad en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa Pesa filtro vacío ($m_{pv} \pm 0,0001$)g	Masa de muestra ($m_{mues} \pm 0,0001$)g	Masa Pesa filtro lleno ($m_{pll} \pm 0,0001$)g	Masa Pesa filtro lleno después de secarla ($m_{pds} \pm 0,0001$)g
1	75,5529	5,0013	80,5542	78,2491
2	76,4512	5,0283	81,4795	78,1599
3	76,9736	5,0673	82,0409	79,6943

TABLA B.2

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de humedad en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa Pesa filtro vacío ($m_{pv} \pm 0,0001$)g	Masa de muestra ($m_{mues} \pm 0,0001$)g	Masa Pesa filtro lleno ($m_{pll} \pm 0,0001$)g	Masa Pesa filtro lleno después de secarla ($m_{pds} \pm 0,0001$)g
1	76,2943	5,0265	81,3208	79,5123
2	76,1539	5,0577	81,2116	78,7523
3	75,9247	5,0437	80,9684	78,4762

TABLA B.3

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de cenizas en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa crisol vacío ($m_{cv} \pm 0,0001$)g	Masa de muestra ($m_{mues} \pm 0,0001$)g	Masa crisol lleno ($m_{c_{ll}} \pm 0,0001$)g	Masa crisol lleno después de incinerar ($m_{c_{di}} \pm 0,0001$)g
1	20,0362	3,0045	23,0407	20,1353
2	19,0593	3,0821	22,1414	19,2011
3	18,4740	3,0196	21,4936	18,5968

TABLA B.4

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de cenizas en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*).

Número de muestra	Masa crisol vacío ($m_{cv} \pm 0,0001$)g	Masa de muestra ($m_{mues} \pm 0,0001$)g	Masa crisol lleno ($m_{c_{ll}} \pm 0,0001$)g	Masa crisol lleno después de incinerar ($m_{c_{di}} \pm 0,0001$)g
1	19,9071	3,0763	22,9834	19,9817
2	11,5460	3,0683	14,6143	11,6040
3	11,5777	3,0082	14,5859	11,6687

TABLA B.5

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de grasa en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{masa} \pm 0,0001$)g	Masa del balón vacío ($m_{bv} \pm 0,0001$)g	Masa del balón lleno ($m_{bll} \pm 0,0001$)g
1	5,0017	111,7947	114,0793
2	5,0007	136,6815	138,6694
3	5,0055	108,2345	110,5743

TABLA B.6

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de grasa en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{masa} \pm 0,0001$)g	Masa del balón vacío ($m_{bv} \pm 0,0001$)g	Masa del balón lleno ($m_{bll} \pm 0,0001$)g
1	5,0209	120,5493	123,3066
2	5,0417	120,0878	122,4576
3	5,0002	107,523	109,9549

TABLA B.7

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de fibra cruda en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{masa}} \pm 0,0001$)g	Masa del crisol fibra seca ($mc_{\text{fs}} \pm 0,0001$)g	Masa del crisol fibra incinerada ($mc_{\text{finc}} \pm 0,0001$)g
1	2,0955	19,4110	18,9835
2	2,0014	19,0699	18,4911
3	2,0223	18,8823	18,4588

TABLA B.8

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de fibra cruda en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{masa}} \pm 0,0001$)g	Masa del crisol fibra seca ($mc_{\text{fs}} \pm 0,0001$)g	Masa del crisol fibra incinerada ($mc_{\text{finc}} \pm 0,0001$)g
1	2,0113	19,3419	18,8547
2	2,0128	19,9871	19,4911
3	2,0134	18,7123	18,2048

TABLA B.9

Datos experimentales para la determinación del porcentaje del contenido de proteínas en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_m \pm 0,0001$)g	Volumen de la solución de HCl empleada en la titulación ($V \pm 0,05$)mL	Porcentaje de proteínas ($P_{\text{prot}} \pm 0,0007$)%
1	1,0191	25,00	21,1367
2	1,0318	24,50	20,4590
3	1,0406	25,00	20,7000

TABLA B.10

Datos experimentales para la determinación del porcentaje del contenido de proteínas en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_m \pm 0,0001$)g	Volumen de la solución de HCl empleada en la titulación ($V \pm 0,05$)mL	Porcentaje de proteínas ($P_{\text{prot}} \pm 0,0007$)%
1	1,0202	21,00	17,7357
2	1,0509	9,50	7,7889
3	1,0024	21,00	18,0506

TABLA B.11

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de calcio en las semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Volumen total de la solución de cenizas ($V \pm 0,1$)mL	Volumen de la alícuota ($V \pm 0,1$)mL	Volumen de la solución de KMnO_4 empleada en la titulación ($V \pm 0,05$)mL
1	100,0	100,0	5,90
2	100,0	100,0	5,80
3	100,0	100,0	5,90

TABLA B.12

Datos experimentales para la determinación del porcentaje de calcio en las semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Volumen total de la solución de cenizas ($V \pm 0,1$)mL	Volumen de la alícuota ($V \pm 0,1$)mL	Volumen de la solución de KMnO_4 empleada en la titulación ($V \pm 0,05$)mL
1	100,0	100,0	4,00
2	100,0	100,0	4,20
3	100,0	100,0	4,30

TABLA B.13

Variables que intervienen en la extracción del aceite de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Tamaño de partícula (mm)	Tiempo de extracción ($t_{ex} \pm 1$)h	Masa de sustrato ($m_s \pm 0,0001$)g	Masa del balón vacío ($m_s \pm 0,0001$)g	Masa del balón lleno ($m_s \pm 0,0001$)g
1	0,50	3	5,0016	137,3931	139,9177
2			5,0043	108,5243	111,0266
3			5,0042	120,4596	123,4596
4		5	5,0127	112,3823	115,033
5			5,0033	108,2733	111,0595
6			5,0044	112,2128	115,0497
7		3	15,0598	112,7612	121,1570
8			15,0880	104,7827	113,2911
9			15,1020	137,9375	146,3118
10		5	15,2108	137,1608	144,4490
11			15,0818	112,6169	119,4300
12			15,0300	109,2009	115,8907
13	1,00	3	5,0017	111,7947	114,0793
14			5,0007	136,6815	138,6694
15			5,0055	108,2345	110,5743
16		5	5,0191	120,1393	122,5919
17			5,0191	107,7861	110,2585
18			5,0301	136,5866	139,0476
19		3	15,0081	112,5984	119,2578
20			15,0085	107,6419	114,3188
21			15,0421	106,7778	113,5627
22		5	15,0048	119,9562	126,9302
23			15,0109	136,4226	141,6450
24			15,0053	107,6041	114,4862

Temperatura ambiente: $(26,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$

Presión ambiente: $(712,10 \pm 0,05)\text{mmHg}$

Volumen de solvente: $(200 \pm 0,1)\text{mL}$

TABLA B.14

Variables que intervienen en la extracción del aceite de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de Muestra	Tamaño de partícula (mm)	Tiempo de extracción ($t_{ex} \pm 1$)h	Masa de sustrato ($m_s \pm 0,0001$)g	Masa del balón vacío ($m_s \pm 0,0001$)g	Masa del balón lleno ($m_s \pm 0,0001$)g
1	0,50	3	5,0140	112,6132	115,4994
2			5,0009	112,7598	115,3634
3			5,0101	111,8462	114,4170
4		5	5,0715	106,9425	109,7859
5			5,0052	138,5146	141,2953
6			5,0075	120,8795	123,8017
7		3	15,0142	108,5428	117,0423
8			15,0366	108,9569	117,5559
9			15,0794	112,4770	121,0451
10		5	15,0361	109,8334	117,2160
11			15,1287	108,5745	115,8423
12			15,3311	111,7484	118,9937
13	1,00	3	5,0209	120,5493	123,3066
14			5,0417	120,0878	122,4576
15			5,0002	107,5230	109,9549
16		5	5,0176	111,9773	114,3866
17			5,0053	107,1324	109,4748
18			5,0112	112,3118	114,6727
19		3	15,0078	136,4950	143,3663
20			15,0080	111,6849	118,5380
21			15,0042	107,2108	114,0123
22		5	15,0117	106,5915	113,1597
23			15,0034	111,4016	118,2221
24			15,0021	111,7404	118,5703

Temperatura ambiente: $(26,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$

Presión ambiente: $(712,10 \pm 0,05)\text{mmHg}$

Volumen de solvente: $(200 \pm 0,1)\text{mL}$

TABLA B.15

Datos experimentales para la determinación de la densidad de relativa en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa del picnómetro vacío ($m_{pv} \pm 0,0001$)g	Masa del picnómetro lleno con aceite ($m_{plla} \pm 0,0001$)g	Masa del picnómetro lleno con agua ($mplla_{agua} \pm 0,0001$)g
1	18,1836	27,1403	28,1458
2		27,1689	28,1458

TABLA B.16

Datos experimentales para la determinación de la densidad de relativa en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa del picnómetro vacío ($m_{pv} \pm 0,0001$)g	Masa del picnómetro lleno con aceite ($m_{plla} \pm 0,0001$)g	Masa del picnómetro lleno con agua ($mplla_{agua} \pm 0,0001$)g
1	18,1836	27,3073	28,1458
2		27,3034	28,1458

TABLA B.17

Datos experimentales para la determinación del índice de refracción en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Índice de refracción leído en el refractómetro ($lr_{leído} \pm 0,0003$)	Temperatura referencia ($T_{ref} \pm 0,5$)°C	Temperatura de lectura ($T_{lect} \pm 0,5$)°C
1	1,4665	20,0	26,0
2	1,4655	20,0	26,0

TABLA B.18

Datos experimentales para la determinación del índice de refracción en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Índice de refracción leído en el refractómetro ($lr_{leído} \pm 0,0003$)	Temperatura referencia ($T_{ref} \pm 0,5$)°C	Temperatura de lectura ($T_{lect} \pm 0,5$)°C
1	1,4666	20,0	26,0
2	1,4667	20,0	26,0

TABLA B.19

Datos experimentales para la determinación del índice de saponificación en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$) _g	Volumen de HCl 0,5N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de HCl 0,5N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	3,0834	25,0	2,4
2	3,0065	25,0	2,2

TABLA B.20

Datos experimentales para la determinación del índice de saponificación en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$) _g	Volumen de HCl 0,5N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de HCl 0,5N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	3,1624	24,8	2,2
2	3,0042	24,8	2,0

TABLA B.21

Datos experimentales para la determinación del índice de iodo en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$) _g	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,01N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,01N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	0,3113	30,2	15,6
2	0,3142	29,2	15,5

TABLA B.22

Datos experimentales para la determinación del índice de iodo en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$)g	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,1N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,1N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	0,3103	30,2	13,9
2	0,3129	29,2	13,2

TABLA B.23

Datos experimentales para la determinación del índice de acidez en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$)g	Volumen de Hidróxido de sodio 0,1N gastados en la valoración ($V_{\text{muestra}} \pm 0,5$)mL	Índice de acidez ($I_{\text{acidez}} \pm 0,05$)
1	5,1090	1,8	1,98
2	5,0079	2,0	2,24

TABLA B.24

Datos experimentales para la determinación del índice de acidez en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$)g	Volumen de Hidróxido de sodio 0,1N gastados en la valoración ($V_{\text{muestra}} \pm 0,5$)mL	Índice de acidez ($I_{\text{acidez}} \pm 0,05$)
1	5,0314	2,3	2,56
2	5,0502	2,5	2,77

TABLA B.25

Datos experimentales para la determinación del índice de peróxido en el aceite de semillas de mandarina (*Citrus reticulata*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$)g	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,01N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,01N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	5,0318	14,4	17,0
2	5,0547	14,4	16,8

TABLA B.26

Datos experimentales para la determinación del índice de peróxido en el aceite de semillas de naranja (*Citrus sinensis*)

Número de muestra	Masa de la muestra ($m_{\text{muestra}} \pm 0,0001$)g	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,01N gastados en la valoración del blanco ($V_b \pm 0,5$)mL	Volumen de Tiosulfato de sodio 0,1N gastados en la valoración de la muestra ($V_a \pm 0,5$)mL
1	5,0084	14,4	16,2
2	5,0653	14,4	16,2

TABLA B.27

Datos experimentales para la determinación de la densidad del producto natural

Número de muestra	Masa del picnómetro vacío ($m_{\text{pv}} \pm 0,0001$)g	Masa del picnómetro lleno con aceite ($m_{\text{plla}} \pm 0,0001$)g
1	18,1836	28,8667
2		28,8689

CÁLCULOS TÍPICOS

En este apéndice se muestran los cálculos típicos realizados para el logro de los objetivos específicos.

C.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS DE NARANJA Y MANDARINA

Los cálculos que se presentan a continuación corresponden a la caracterización semilla de mandarina, deben realizarse de igual manera para la semilla de naranja.

C.1.1. Determinación del porcentaje de humedad de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.1 se determina el contenido de humedad de la semilla de mandarina:

$$\%H = \frac{(m_{pv} + m_{mvh} - m_{pms})}{m_{pv}} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de tabla B.1, se obtiene:

$$\%H = \frac{(75,5529 + 5,0013 - 80,5542)}{5,0013} \times 100$$

$$\%H = 46,0900\%$$

De igual manera se realizan los cálculos para las muestras 2 y 3 de semillas de mandarina y se calcula el promedio, obteniéndose:

$$\overline{\%H} = 46,1994\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%H = \left[\frac{(\Delta m_{pv} + \Delta m_{mvh} + \Delta m_{pms})}{m_s} \right] + \frac{(m_{pv} + m_s - m_{pms}) \times \Delta m_s}{m_s^2}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta\%H = 0,0069 \cong 0,007\%$$

Entonces el porcentaje de humedad de las semillas de mandarina, mostrado en la Tabla 4.1, es:

$$\%H = (46,199 \pm 0,007)\%$$

C.1.2. Determinación del porcentaje de cenizas en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.2 se determina el contenido de cenizas de las semillas de mandarina:

$$\%C_s = \frac{(m_{cc} - m_{cv})}{m_{cm}} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.3, se obtiene:

$$\%C_s = \frac{(20,1353 - 20,0362)}{3,0045} \times 100$$

$$\%C_s = 3,2984\%$$

De igual manera se calcula el porcentaje de cenizas para las muestras 2 y 3 se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\overline{\%C_s} = 3,9886\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%C_s = \left[\frac{(\Delta m_{cc} + \Delta m_{cv})}{m_s} + \frac{(m_{cc} + m_{cv})}{m_s^2} \right] \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes:

$$\Delta\%C_s = 0,05\%$$

Así, el porcentaje de cenizas de la semilla de mandarina mostrado en la tabla 4.1, es:

$$\%C_s = (3,98 \pm 0,05)\%$$

C.1.3. Determinación del porcentaje de aceite en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.3, se determina el contenido de grasa o aceite en la semilla de mandarina:

$$\%G = \frac{(m_{bpd} - m_{bpa})}{m_{as}} * 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la tabla B.5, se obtiene:

$$\%G = \frac{(114,0793 - 111,7947)g}{5,0017g} \times 100$$

$$\%G = 45,6765\%$$

De igual manera se calcula el porcentaje de grasa libre para las muestras 2 y 3 se determina el valor promedio, el cual es:

$$\%G = 44,0578\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%G = \left[\frac{(\Delta m_{bpd} + \Delta m_{bpa})}{m_{as}} + \frac{(m_{bpd} - m_{bpa})}{m_{as}^2} \right] \times 100$$

$$\Delta\%G = 0,005\%$$

Así, el porcentaje de grasa en la semilla de mandarina, la cual se muestra en la Tabla 4.1, es:

$$\%G = (44,057 \pm 0,005)\%$$

C.1.4. Determinación del porcentaje de fibra cruda en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.4, se determina el porcentaje de fibra cruda en la semilla de mandarina:

$$\%F_c = \frac{(m_{rai} - m_{rdi})}{m_{md}} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación IV, los valores correspondientes a la primera muestra de Tabla B.7, se obtiene:

$$\%F_c = \frac{(19,4110 - 18,9835)g}{2,0955g} \times 100$$

$$\%F_c = 20,4009\%$$

De igual manera se calcula el porcentaje de fibra cruda para la muestra 2, determinando el valor promedio:

$$\overline{\%F_c} = 20,6712\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%F_c = \left[\frac{(\Delta m_{rai} + \Delta m_{rdi})}{m_{md}} + \frac{(m_{rai} - m_{rdi})}{m_{md}^2} \right] \times 100$$

$$\Delta\%F_c = 0,0085 \cong 0,009\%$$

Así, el porcentaje de fibra cruda de la semilla de mandarina, el cual se muestra en la Tabla 4.1, es:

$$\%F_c = (20,671 \pm 0,009)\%$$

C.1.5. Determinación del porcentaje de proteínas en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.5, se determina el contenido de proteínas en las semillas de mandarina:

$$\%P_r = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times Peq_N \times f}{m_m} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.9, se obtiene:

$$\%P_r = \frac{0,2100L \times 0,0984eq/L \times 14,01g/eq \times 6,25}{1,0202g} \times 100$$

De igual manera se calcula el porcentaje de proteínas para las muestras 2 y 3, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\%P_r = 17,7357\%$$

Calculo del error:

$$\Delta\%P_r = PE_N \times F \left[\frac{(0,0984eq/L \times 5 \times 10^{-5}) + (0,02100L \times 1 \times 10^{-4}eq/L)}{1,0202g} + \dots \right]$$

$$\dots + \left(\frac{(0,02100L \times 0,0984eq/L) \times 1 \times 10^{-4}g}{(1,0202)^2g} \right)$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta\%F_c = 0,00065 \cong 0,0007\%$$

Así, el porcentaje de proteínas de la semilla de mandarina, el cual se muestra en la Tabla 4.1, es:

$$\%P_r = (17,7357 \pm 0,0007)\%$$

C.1.6. Determinación del porcentaje de calcio en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.6, se determina el contenido de calcio en las semillas de mandarina:

$$\%Ca = \frac{V_{KMno_4} \times N_{KMno_4} \times Peq_{Ca} \times V_{tc}}{A_c \times m_c \times 1000} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes a la primera muestra, incluidos en las Tablas B.3 y B.11 se obtiene:

$$\%Ca = \frac{0,00590L \times 0,08eq/L \times 20,04g/eq \times 100mL}{100 \times 1000 \times 2,5809} \times 100$$

$$\%Ca = 0,366495\%$$

De igual manera se calcula el porcentaje de calcio para las muestras 2 y 3, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\overline{\%Ca} = 0,364425\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%Ca = \frac{20,04 \times 100}{A_c \times 1000 \times m_c} \left[\begin{aligned} & \left[(N_{KMno_4} \times V_{tc} \times \Delta V_{KMno_4}) + (V_{KMno_4} \times V_{tc} \times \Delta N_{KMno_4}) + \dots \right] \\ & \dots + (V_{KMno_4} \times N_{KMno_4} \times \Delta V_{tc}) + \left(\frac{V_{KMno_4} \times N_{KMno_4}}{V_{tc}^2} \right) + \dots \\ & \dots + \left(\frac{(V_{KMno_4} \times N_{KMno_4} \times V_{tc}) \times (\Delta m_c)}{m_c} \right) \end{aligned} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta\%Ca = 0,00051 \cong 0,0005\%$$

Así, el porcentaje de calcio de la semilla de mandarina, el cual se muestra en la Tabla 4.1, es:

$$\%Ca = (0,3644 \pm 0,0005)\%$$

C.1.7. Determinación del porcentaje de carbohidratos en las semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.7, se determina el contenido de carbohidratos en las semillas de mandarina:

$$\%Carbohidratos = 100 - F_c - P_r - G - C_s$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes a la primera muestra, incluidos en las Tablas B.1., B.3., B.5., B.7. y B.9., se obtiene:

$$\%Carbohidratos = 100 - 20,671 - 17,7357 - 44,057 - 3,98$$

$$\%Carbohidratos = 10,5172\%$$

Cálculo del error:

También se termina empleando el método de derivadas parciales

$$\Delta\%Carbohidratos = 0,01\%$$

C.2. EXTRACCIÓN LOS ACEITES A PARTIR DE LAS SEMILLAS DE NARANJA Y MANDARINA A NIVEL DE LABORATORIO.

Luego de aplicar el diseño experimental antes expuesto en el capítulo III, se determina el rendimiento obtenido en cada extracción.

C.3.1. Determinación del rendimiento de la extracción del aceite de semillas de mandarina.

Mediante la ecuación 3.8, se determina el rendimiento de la extracción:

$$\%R = \frac{(m_{bl} - m_{bv})}{m_a} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes a la primera extracción Tabla B.13, se obtiene:

$$\%R = \frac{(139,9177 - 137,3931)}{5,0016} \times 100$$

$$\%R = 50,4758\%$$

De igual manera se calcula el porcentaje de rendimiento para las muestras 2 y 3, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\overline{\%R} = 53,4762\%$$

Cálculo del error:

$$\Delta\%R = \left[\frac{(\Delta m_{bl} + \Delta m_{bv})}{m_a} + \frac{(m_{bl} + m_{bv}) \times \Delta m_s}{m_a^2} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta\%R = 0,005\%$$

Así, el porcentaje de rendimiento de la primera extracción mostrado en la Tabla 4.2, es:

$$\%R = (53,476 \pm 0,005)\%$$

C.3. CARACTERIZACIÓN LOS ACEITES CRUDOS.

Los cálculos que se presentan a continuación corresponden a la caracterización del aceite crudo de mandarina, deben realizarse de igual manera para la semilla de naranja.

C.3.1. Determinación de la densidad relativa del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.9, se determina la densidad relativa del aceite de semilla de mandarina:

$$\rho_R = \frac{m_2}{m_1 \times [1 + \alpha \times (T - 20^\circ C)]}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.15:

$$\rho_R = \frac{(8,9567)g}{(9,9622)g \times [1 + 0,00001 \times (28 - 20^\circ C)]}$$

$$\rho_R = 0,8990 \text{ adim}$$

De igual manera se calcula la densidad relativa para las muestra 2, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\overline{\rho_r} = 0,900431 \text{ adim}$$

Cálculo del error:

$$\Delta\rho_r = \frac{1}{m_1 \times (1 + \alpha(T - 20))} \left[\Delta m_2 + \frac{m_2 \Delta m_{H_2O}}{m_1} + \frac{m_2 \times \alpha \times \Delta T}{m_1} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta\rho_r = 0,0000426 \cong 0,00004$$

Así, el porcentaje de rendimiento de la primera extracción mostrado en la Tabla 4.2, es:

$$\rho_r = (0,90043 \pm 0,00004) \text{ adim}$$

C.3.2. Determinación del índice de refracción del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.10, se determina el índice de refracción del aceite de semilla de mandarina:

$$I_R = I_{leido} \times K \times (T_{leido} - T)$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.17:

$$I_R = 1,4665 \times 0,000335 \times (26 - 20)$$

$$I_R = 1,46851 \text{ adim}$$

De igual manera se calcula el índice de refracción para las muestra 2, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\bar{I}_R = (1,4680 \pm 0,0003) \text{ adim}$$

C.3.3. Determinación del índice de saponificación del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.11, se determina el índice de saponificación del aceite de semilla de mandarina:

$$I_s = \frac{56,1 \times N_{HCl}(V_B - V_A)}{m_a}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.19:

$$I_s = \frac{56,1 \times 0,5eq/L \times (25 - 2,4)mL}{3,0834}$$

$$I_s = 205,5945 \text{ mg KOH/g aceite}$$

De igual manera se calcula el índice de saponificación para la muestra numero 2 y se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\%I_s = 209,1568 \text{ mg KOH/g aceite}$$

Cálculo del error:

$$\Delta I_s = \frac{56,1}{m_a} \left[N_{HCl} \left((\Delta V_B + \Delta V_A) + \frac{(V_B - V_A) \times \Delta m_a}{m_a} \right) + (V_B - V_A) \Delta N_{HCl} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta I_s = 0,9349 \cong 0,9 \text{ mg KOH/g aceite}$$

Así, el índice de saponificación del aceite de la semilla de mandarina, el cual se encuentra en la Tabla 4.3, es:

$$I_s = (209,2 \pm 0,9) \text{ mg } KOH/g \text{ aceite}$$

C.3.7. Determinación del índice de yodo del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.12, se determina el índice de yodo del aceite de semilla de mandarina:

$$I_I = \frac{12,69 \times N_{TS} \times (V_B - V_A)}{m_a}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.21:

$$I_I = \frac{12,69 \times 0,15686 \text{ eq/L} \times (30,2 - 15,6)}{0,3113}$$

$$I_I = 93,3571 \text{ cg } I/g \text{ aceite}$$

De igual manera se calcula el índice de yodo para la muestra numero 2 y se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\bar{I}_I = 90,07 \text{ cg } I/g \text{ aceite}$$

Cálculo del error:

$$\Delta I_I = \frac{12,69}{m_a} \left[N_{TS} \left((\Delta V_B + \Delta V_A) + \frac{(V_B - V_A) \times \Delta m_a}{m_a} \right) + (V_B - V_A) \Delta N_{TS} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes, se obtiene:

$$\Delta I_I = 0,67511 \cong 0,7$$

Así, el índice de yodo del aceite de la semilla de mandarina, el cual se encuentra en la Tabla 4.3, es:

$$I_I = (90,1 \pm 0,7) \text{ cg } I/g \text{ aceite}$$

C.3.6. Determinación del índice de acidez del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.13, se determina el índice de acidez del aceite de semilla de mandarina:

$$I_A = \frac{(0,561 \times N_{NaOH} \times V_{NaOH})}{m_a} \times 100$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.23, se obtiene:

$$I_A = \frac{(0,561 \times 0,1 \times 1,8)}{5,1090} \times 100$$

$$I_A = 1,976512 \text{ NaOH /g aceite}$$

De igual manera se calcula el índice de acidez para la muestra numero 2 y se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\bar{I}_A = 2,1085 \text{ NaOH /g aceite}$$

Cálculo del error:

$$\Delta I_A = \frac{(Pm_a \times 100)}{m_a} \times \left[(N_{NaOH} \times \Delta V_{NaOH}) + (V_{NaOH} \times \Delta N_{NaOH}) + \frac{(V_{NaOH} \times N_{NaOH}) \times \Delta m_a}{m_a} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla 4.3, se obtiene:

$$\Delta I_A = 0,0551 \cong 0,05$$

Así, el índice de acidez del aceite de la semilla de mandarina, el cual se encuentra en la Tabla 4.3, es:

$$I_A = (2,11 \pm 0,05) \text{ NaOH /g aceite}$$

C.3.7. Determinación del índice de peróxido del aceite de la semilla de mandarina.

Mediante la ecuación 3.14, se determina el índice de peróxido del aceite de semilla de mandarina:

$$I_p = \frac{1000 * N_{TS} \times (V_A - V_B)}{m_a}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.25, se obtiene:

$$I_p = \frac{1000 * 0,01eq/L \times (17 - 14)mL}{5,0318g}$$

$$I_p = 5,1671 meq/Kg aceite$$

De igual manera se calcula el índice de peróxido para la muestra numero 2 y se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\bar{I}_p = 4,9576 meq O_2/Kg aceite$$

Cálculo del error:

$$\Delta I_p = \frac{1000}{m_a} \left[N_{TS} \left((\Delta V_B + \Delta V_A) + \frac{(V_B - V_A) \times \Delta m_a}{m_a} \right) + (V_B - V_A) \Delta N_{TS} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla 4.3, se obtiene:

$$\Delta I_p = 0,16 \cong 0,2$$

Así, el índice de peróxido del aceite de la semilla de mandarina, el cual se encuentra en la Tabla 4.3, es:

$$I_p = (5,0 \pm 0,2) meq O_2/Kg aceite$$

C.4. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO COSMÉTICO NATURAL.

C.4.1 Determinación de la densidad del producto cosmético.

Mediante la ecuación 3.15, se determina la densidad del producto cosmético natural:

$$\rho_R = \frac{m_{pc} - m_{pv}}{V_p}$$

Sustituyendo en la ecuación los valores para la primera muestra de la Tabla B.27, se obtiene:

$$\rho_C = \frac{(28,8667 - 18,1836)g}{10mL}$$

$$\rho_C = 1,168310g/mL$$

De igual manera se calcula la densidad relativa para las muestra 2, luego se determina el valor promedio, obteniéndose:

$$\bar{\rho}_R = 1,18679g/mL$$

Cálculo del error:

$$\Delta\rho_R = \left[\frac{m_{pc}\Delta m_{pc}}{V_p} + \frac{(m_{pc} - m_{pv})\Delta V_p}{V_p^2} \right]$$

Sustituyendo en la ecuación los valores correspondientes:

$$\Delta\rho_R = 0,00012683 \cong 0,0001$$

Así, la densidad del producto cosmético mostrada en la Tabla 4. 5, es:

$$\rho_R = (1,1867 \pm 0,0001)g/mL$$

INFORMES

Laboratorio de Servicios Analíticos



Ubicado en
APC Planta Salsas y Untables,
Valencia - Edo Carabobo.
Telf: (0 241)-8395016

Alimentos Polar

Informe N° 20110509160957

Lunes, 09 de Mayo de 2011 04:10:00 PM

Impreso por:

Alexis Reyes

Datos de la Muestra

Muestra: 22967
Planta: Universidad de Carabobo
Producto: Aceite
Solicitante: Norga Plácido
Muestra Testigo: No
Fecha de entrega: 09/05/2011

Observaciones:

Aceite de semilla de mandarina

Informe autorizado por:

Alexis Reyes

Tipo de Analisis	Metodo	Resultado	Valor	Analista
Perfil de ácidos grasos	GC-COVENIN 2281	C 12 : 0	0,0±0.1%	Alexis Reyes
		C 14 : 0	0,1±0.1%	
		C 16 : 0	23,4±0.1%	
		C 16 : 1	0,5±0.1%	
		C 18 : 0	6,7±0.1%	
		C 18 : 1	30,8±0.1%	
		C 18 : 2	35,2±0.1%	
		C 18 : 3	2,6±0.1%	
		C 20 : 0	0,7±0.1%	
		C 20 : 1	0,2±0.1%	
		C 22 : 0	0,0±0.1%	
		C 22 : 1	0,0±0.1%	
		C 24 : 0	0,0±0.1%	
		C 10 : 0	0,0±0.1%	

LOS ANÁLISIS AQUÍ REPORTADOS NO PUEDEN SER REPRODUCIDOS PARCIALMENTE SIN LA AUTORIZACIÓN POR ESCRITO DEL LABORATORIO.

Página 1 de 2

Figura D.1. Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de mandarina

Laboratorio de Servicios Analíticos



Alimentos Polar

Ubicado en
APC Planta Salsas y Untables,
Valencia - Edo Carabobo.
Telf: (0 241)-8395016

Datos de la Muestra

Muestra: 22986
Planta: Universidad de Carabobo
Producto: Aceite
Solicitante: Norga Plácido
Muestra Testigo: No
Fecha de entrega: 09/05/2011

Informe N° 20110509160950

Lunes, 09 de Mayo de 2011 04:09:53 PM

Impreso por:
Alexis Reyes

Observaciones:

Aceite de semilla de naranja

Informe autorizado por:
Alexis Reyes

Tipo de Analisis	Metodo	Resultado	Valor	Analista
Perfil de ácidos grasos	GC-COVENIN 2281	C 12 : 0	0,0±0.1%	Alexis Reyes
		C 14 : 0	0,1±0.1%	
		C 16 : 0	27,7±0.1%	
		C 16 : 1	0,4±0.1%	
		C 18 : 0	5,9±0.1%	
		C 18 : 1	27,7±0.1%	
		C 18 : 2	33,9±0.1%	
		C 18 : 3	3,6±0.1%	
		C 20 : 0	0,5±0.1%	
		C 20 : 1	0,1±0.1%	
		C 22 : 0	0,0±0.1%	
		C 22 : 1	0,0±0.1%	
		C 24 : 0	0,0±0.1%	
		C 10 : 0	0,0±0.1%	

LOS ANÁLISIS AQUÍ REPORTADOS NO PUEDEN SER REPRODUCIDOS PARCIALMENTE SIN LA AUTORIZACIÓN POR ESCRITO DEL LABORATORIO.

Página 1 de 2

Figura D.2. Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de naranja



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CENTRO DE INVESTIGACIONES MICROBIOLÓGICAS
APLICADAS
Telefax: 0241-8679268 0412-3421042
E-mail: uma_fcs@uc.edu.ve



EVALUACION MICROBIOLÓGICA DE COSMÉTICO

Naguanagua, 11 de Mayo de 2011

MUESTRA.

M₁: crema de cítricos

M₂: crema de pijiguao

METODOLOGÍA.

ENSAYO	METODO
1. Carga heterotrófica (aerobios mesófilos)	1. Diluciones y vertido en placa en agar plate count.
2. Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	2. Dilución seriada y vertido en placa de agar baird parker
3. Detección de Mohos y Levaduras	3. Suspensión y estriación en medio selectivo (Sabouraud)
4. Detección de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4. Suspensión y estriación en medio selectivo (Cetrimide)



RESULTADOS.

Muestra	Aerobios Mesófilos UFC/g	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC/g	<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	Mohos UFC/g	Levaduras UFC/g
M ₁	3	< 1	< 1	< 1	< 1
M ₂	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Covenin 2130-98	<10 ³	Ausentes	Ausentes	<10 ²	<10 ²


UFC/g: Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

OBSERVACIONES.

1.- Tomando en cuenta la Norma Covenin 2130-1998 sobre cosméticos métodos microbiológicos, las muestras cumplen con los valores establecidos en la misma. Las muestras de crema pueden ser utilizada para fines tópicos.


Dr. Luis Medina
Director




Ysda. Noja Izzeddin
Bioanalista

APÉNDICE E

En esta sección se muestran las imágenes de la metodología seguida por el software estadístico statgraphics 5.1, para la selección de las mejores condiciones de extracción

Selección de la variedad que proporciona mayor rendimiento

Para seleccionar la variedad que proporciona el mayor rendimiento se sigue la siguiente ruta: StatWizard → Diseñar un nuevo experimento o plan de muestreo (Figura E.1, parte a) → Diseñar un experimento (Figura E.1, parte b) → Clase Multi Nivel Factorial.

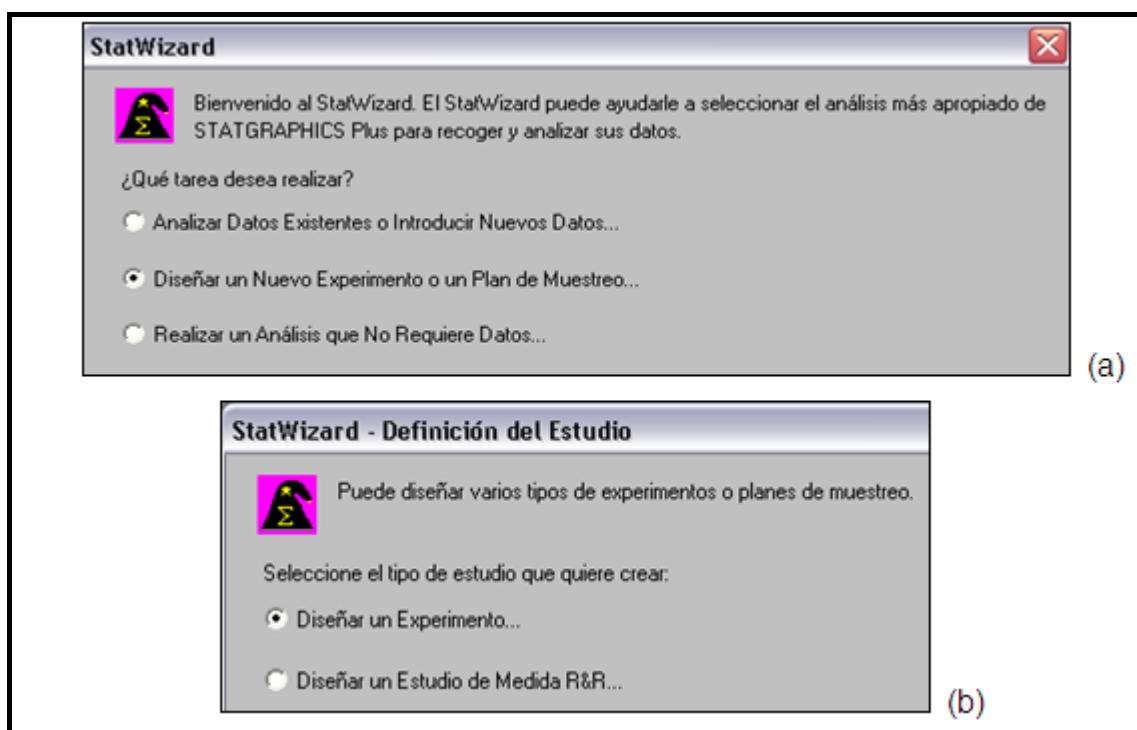


Figura E.1. Definición del diseño de experimento factorial. La imagen (a) muestra la selección de un diseño de experimento, la (b) la creación de un diseño de experimento

En la figura E.2 se deben especificar el número de variables de respuestas y el número de factores experimentales. Una vez que se establece el número de factores, se procede a establecer los niveles de operación de cada uno de ellos en el programa como se muestra en la figura E.3.

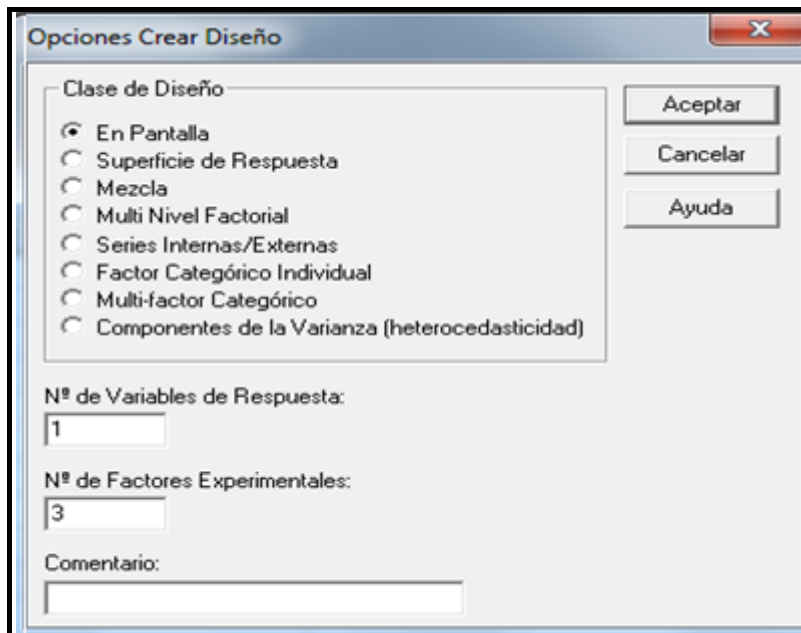


Figura E.2. Definición del diseño de experimento factorial. Selección del diseño factorial

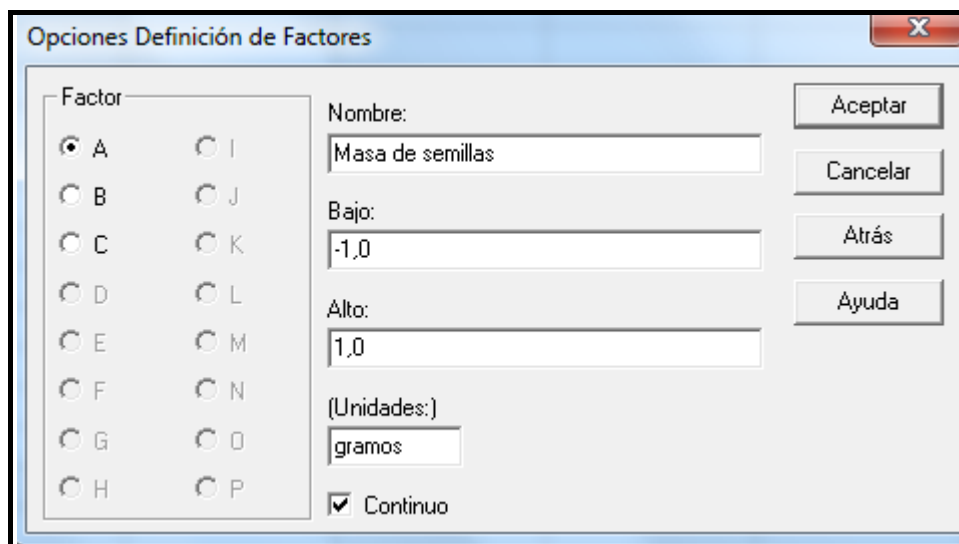


Figura E.3. Definición de los niveles de los factores experimentales

Una vez establecido los niveles con sus respectivas unidades de cada factor se enuncia la variable de respuesta a analizar en el diseño de experimento (ver Figura E.4).

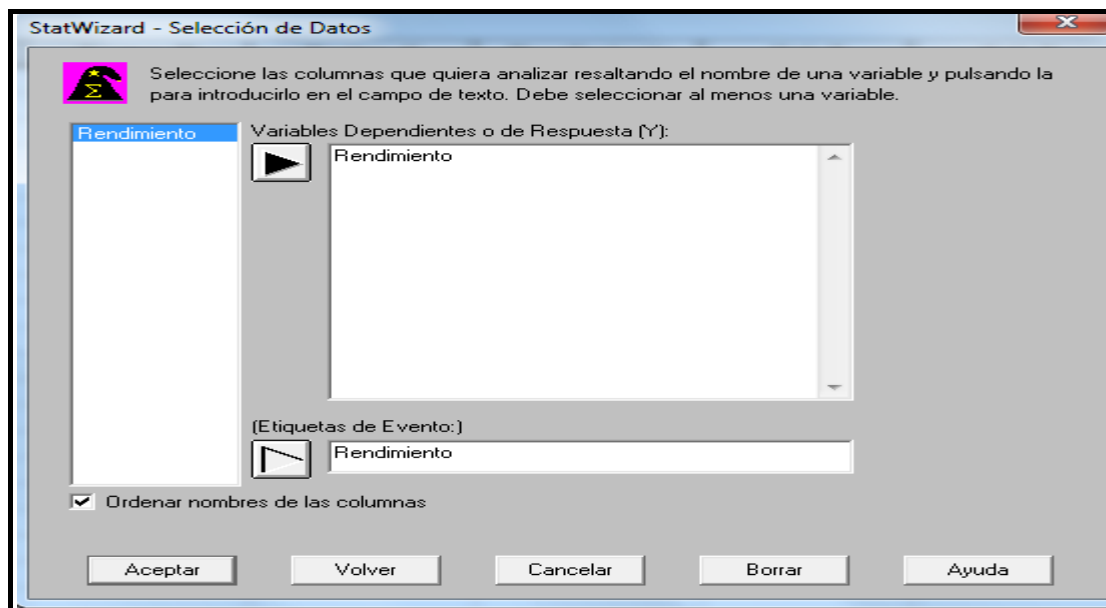


Figura E.4. Definición de la variable de respuesta.

A continuación se indica el número de replicas a efectuar, verificando que la opción “aleatorizar”, para realizar un muestreo de forma aleatoria. El diseño experimental establece la forma de recolección de datos para el análisis de la variable de respuesta del estudio, haciendo combinaciones entre los factores experimentales.

Para realizar el análisis estadístico al diseño de experimento factorial $2^3 \times 3$, se introdujo la data experimental correspondiente a la(s) variable(s) de respuesta(s) en el programa statgraphics plus versión 5.1. Inicialmente se abre el diseño experimental a analizar de la forma que se representa en la Figura E.5, siguiendo la siguiente ruta: StatWizard → Analizar Datos existentes o Introducir Nuevos Datos... (parte a) → En un StatFolio existente... (parte b) → Seleccionar el diseño experimental y presionar Abrir.



Figura E.5. Diseño experimental. La imagen (a) muestra la selección de análisis de los datos del diseño ya existente y la (b) muestra la selección de la ubicación del diseño de experimento

Para hacer el análisis estadístico, se siguen las siguientes opciones (ver Figura E.5): StatWizard → Analizar diseño → se da el nombre de la variable de respuesta a analizar, y entonces se tendrá acceso a un conjunto de opciones de análisis tanto gráficas como analíticas. Para las variables respuestas, tales como: masa, tamaño de partícula y tiempo de extracción, se especifican los efectos principales y efectos de las interacciones lineales, diagrama de Pareto estandarizado, ANOVA, distribución normal para los efectos, gráfica de varianza constante para los efectos, pruebas de varianza constante cuando aplique.

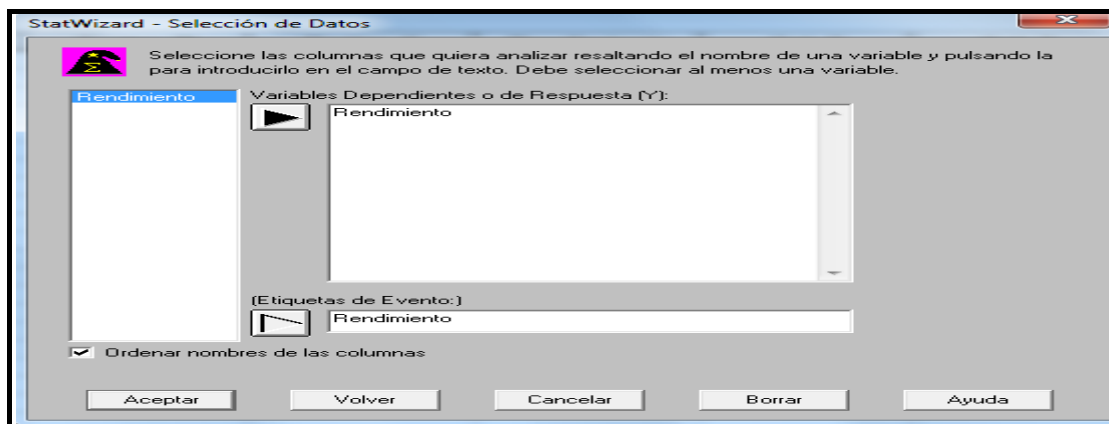


Figura E.6. Selección de datos a analizar