

Evaluación del contenido de carotenoides totales en cáscaras de algunas variedades de naranjas venezolanas

M.J. Moreno Alvarez¹, D.R. Belén, D. García y L. Mendoza

Universidad Simón Rodríguez, Laboratorio de Biomoléculas, Núcleo Canoabo, estado Carabobo, Republica Bolivariana de Venezuela.

Resumen

Con el propósito de evaluar el contenido de carotenoides totales en las cáscaras de naranjas de las variedades California, Pineapple, Criolla y Cajera, se efectuó una selección de frutos utilizando como criterios la ausencia aparente de clorofila y madurez homogénea. Las cáscaras se procesaron para obtener una harina, la cual fue sometida a procesos de extracción exhaustiva independientes, utilizando como solvente hexano y una mezcla éter de petróleo/hexano (25:75). Se determinaron diferencias significativas en relación a la cuantificación de los carotenoides totales evaluados entre las cuatro variedades estudiadas ($P < 0,05$). El mejor tratamiento resultó la mezcla 75% hexano: 25% éter de petróleo, independientemente de la variedad. La variedad con mayor rendimiento fue la Criolla con un contenido de 140,0 mg de carotenoides/kg de cáscaras. **Palabras clave:** Naranjas, carotenoides, extracción, solventes orgánicos.

Introducción

Las especies del género *Citrus* son originarias de los trópicos y subtropicos del este del Asia y del archipiélago Indo-Malayo (2). En relación al naranjo dulce se supone que se originó en el sureste asiático y fue difundido a través de Arabia y el sur de Europa (15). En la actualidad esta diseminado por casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Las plantaciones venezolanas se encuentran ubicadas en los Valles Altos de Carabobo (Municipios

Bejuma, Montalbán y Miranda) y Yaracuy, en el estado Táchira, Monagas, Sucre, Aragua y Miranda (10). En Venezuela se cultivan las siguientes variedades de naranjas dulces: Valencia, California (Washinntong Navel), Pineapple, Parson, Brown, Mediterránea dulce, Luegin y Puerto Rico (11).

En Venezuela, la naranja (*Citrus sinensis* L.), es la fruta cítrica que posee mayor popularidad por la industrialización de su jugo (13). Cer-

Recibido el 18-6-2004 • Aceptado el 8-7-2005

¹Autor para correspondencia email: morenoalvarez@cantv.net. Tel 58-249-9418 984 - Fax 58-249-7971184

ca del 50% de la biomasa existente es aprovechada, así mismo, el otro 50% constituido por cáscaras y semillas, entre otros, queda subutilizado (5, 6, 19). Para el año 2010 se prevé una producción nacional de naranjas de 907.840 TM. En relación a la producción de desecho y flavelo se estima 67.882 TM y 7.006 TM, respectivamente (4).

Las cáscaras de naranjas presentan un potencial poco explotado. El uso de este subproducto agrícola se limita a la alimentación de bovinos y recientemente en la alimentación de tilapia roja (22). Sin embargo, estos desechos son ricos en aceites esenciales y pigmentos naturales que merecen ser utilizados, para lograr un aprovechamiento integral del rubro (19). Entre los pigmentos naturales presentes en los desechos de naranja se encuentran los carotenoides, los cuales son muy importantes ya que representan una fuente de provitamina A (1 equivalente de retinol = 1 μ de retinol = 6 μ g de β -caroteno), no son tóxicos, presentan dentro de la célula actividad antioxidante (16, 17), participan en la desactivación de radicales libres producidos en el metabolismo celular, imparten colores amarillos y rojos de las plantas y animales (3, 7, 9, 23, 27). La evaluación y posterior purificación de estos metabolitos permitiría utilizarlos como colorantes naturales para la fortificación del color en los jugos y/o en cualquier otro alimento en lugar de la utilización de los colorantes artificiales que son de naturaleza tóxica (6, 19, 20, 21, 23). Los colorantes utilizados en la agroindustria, en su

mayoría son importados y de origen artificial. Muchos de estos compuestos producen alergias en los niños y en valores altos son tóxicos (23).

Por el contrario estudios epidemiológicos han demostrado que existe una relación inversa entre la incidencia de cáncer y el consumo de fuentes naturales de carotenoides (17). Sin embargo, la purificación de estos compuestos es costosa por el uso de solventes orgánicos en su extracción. Los carotenoides son tetraterpenos compuestos de 40 átomos de carbono, derivados del fitoeno, constan básicamente de ocho unidades isoprénicas de tal manera, que su disposición de las unidades de isopreno se encuentran invertidas en el centro de la molécula, los dos grupos metilos centrales están en posición 1,6; mientras que el resto de los grupos metilos se encuentra en posición 1,5 (12,27). Tienen origen común biosintético con varias estructuras isoprenicas: monoterpenos, gibelinas y esteroides, siendo el precursor el isopentenil pirofosfato, el cual se forma a partir del acetyl-CoA previa condensación de los intermediarios hidroximetilglutaril y mevalonato (27). Los métodos más utilizados en la extracción de carotenoides son: remoción con solventes orgánicos, fluidos supercríticos y aceites (14, 20, 21, 24, 25, 29).

El objetivo de esta investigación es evaluar el contenido de carotenoides totales en cáscaras de cuatro variedades de naranja cultivadas en el occidente del estado Carabobo, Venezuela, utilizando dos marchas de separación con solventes orgánicos.

Materiales y métodos

Muestreo:

Se colectaron lotes de doscientas naranjas (*Citrus sinensis* L.) para cada una de las variedades Criolla, California, Cajera y Pineapple. El muestreo para las tres primeras variedades se efectuó en plantillas agrícolas ubicadas en Canoabo, estado Carabobo, Venezuela y la variedad Pineapple fue recolectada en la Finca Montero ubicada en el municipio Montalbán, del estado Carabobo. Todas las muestras pertenecían a la cosecha mayo-junio, 2002. El traslado de los frutos se efectuó a las instalaciones del Laboratorio de Biomoléculas en sacos convencionales. El muestreo de los frutos se realizó según criterios establecidos por Moreno-Álvarez *et al.*, (21).

Caracterización fisicoquímica del jugo y las cáscaras

Se procesaron naranjas con la finalidad de extraer jugo para evaluar los siguientes parámetros fisicoquímicos: sólidos solubles expresados como °Brix, determinados mediante un refractómetro marca Baush & Lomb ABBE-3L, pH determinado mediante un equipo HANNA instrument, modelo pHep1®. La acidez titulable del jugo y la humedad de las cáscaras se determinó según metodología AOAC (1). Se calculó el índice de madurez mediante la relación °Brix/acidez. Se colocaron valores promedio de tres repeticiones.

Obtención de la harina integral de cáscaras de naranja

En el laboratorio se procedió a realizar un muestreo, para seleccionar un lote aproximado de 100 naranjas por variedad con un grado de madurez homogéneo, desechándose aquellos frutos que poseían zonas con reverdecimiento. Los frutos fueron colocados en recipientes plásticos, con suficiente agua limpia y frotados manualmente para eliminar residuos de tierra, hojas y partículas indeseables presentes en la superficie del fruto.

Las cáscaras fueron desprovistas de flavelo y cortados en trozos de 4 cm, aproximadamente, usando para ello cuchillo de acero inoxidable. Posteriormente, fueron cortadas y sometidas a secado en una estufa al aire a una temperatura de 45°C hasta alcanzar una humedad comprendida entre 7% y 10%. Se efectuó una molienda utilizando un molino sin fin marca MLW modelo 214 con el propósito de obtener la granulometría (Tamiz marca Sardo apertura 0,25 mm) deseada para facilitar así el proceso de extracción (22).

Una vez obtenida la harina se pesaron 10,000±0,001 g y se colocaron en matraces ámbar. Se le agregó 100 mL de solvente orgánico. Los tratamientos establecidos independientemente fueron los siguientes: 100% n-hexano (H) de marca Mallinckrodt ChormaAR® HPLC, con un intervalo de ebullición 60-70°C y 75% hexano (H):25% de éter de petróleo (E) (marca Riedel-de Haën®, con intervalo de ebullición 40-60°C). Las extracciones se efectuaron completamente en la oscuridad por 48 Horas. Los extractos se filtraron al vacío en embudos de por-

Extracción de los carotenoides

Una vez obtenida la harina se pesaron 10,000±0,001 g y se colocaron en matraces ámbar. Se le agregó 100 mL de solvente orgánico. Los tratamientos establecidos independientemente fueron los siguientes: 100% n-hexano (H) de marca Mallinckrodt ChormaAR® HPLC, con un intervalo de ebullición 60-70°C y 75% hexano (H):25% de éter de petróleo (E) (marca Riedel-de Haën®, con intervalo de ebullición 40-60°C). Las extracciones se efectuaron completamente en la oscuridad por 48 Horas. Los extractos se filtraron al vacío en embudos de por-

celana (Pyix USA, N° 36060; 15 mL, ASTM 10-15 mL) lavando con 100 mL de solvente. Los extractos obtenidos fueron concentrados en un equipo rota evaporador marca Heidolph modelo VV2011, a una temperatura de 40°C ± 0,1. Los extractos concentrados y previamente enraizados con su respectiva solución orgánica fueron colocados en los embudos de separación, se mezclaron con 100 mL de una mezcla de KOH metanólico al 1% p/v. Finalmente se procedió a la cuantificación de carotenoides totales a partir de los extractos orgánicos presentes en la cáscara de la naranja.

Cuantificación del contenido de carotenoides presentes en cada variedad

Los extractos fueron evaluados mediante espectroscopia visible utilizando un Spectronic 20, marca Bausch & Lomb, con celda de 1 cm de espesor contra sus respectivos blancos, la determinación de los carotenoides totales se efectuó, me-

dante la siguiente curva de calibración $Y = 0,0219 + 28,138 X$; se utilizó como patrón puro beta-caroteno (Sigma St Louis, Mo, USA.) a una longitud de onda de 440nm.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de 4 bloques al azar: variedades de naranjas (Criolla, Cajera, Pineapple y California), con 3 repeticiones, y dos tratamientos dados por 2 solventes (Hexano "H" puro y mezcla hexano-éter de petróleo "H-E" relación 75% H: 25% E). La escogencia de las proporciones estuvo sustentada en una investigación previa en la cual se determinó que el Hexano puro y las mezcla Hexano/E las (75:25) resultaron mas idóneos para la extracción de carotenoides totales en cáscaras de naranjas (18). Los valores obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de una vía ($P < 0,05$) y prueba de comparación de medias de Tukey utilizando para ello el paquete estadístico SAS (26).

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan los valores obtenidos de la caracterización fisicoquímica de la materia prima para el jugo (pH, acidez, °Brix e índice de madurez). El pH oscilo entre un rango de 2,8 y 4,3 siendo la variedad Criolla con un valor de 3,5 y la Pineapple con un 3,8 las que presentan valores similares a la variedad Valencia (21).

De las variedades estudiadas la variedad Cajera fue la que presentó el mayor valor de acidez titulable 1,34 lo cual se relaciona directamente con

el menor valor de pH obtenido, mientras que la variedad California fue la que presento el valor más cercano 0,81 gramos de ácido cítrico/100 mL de jugo al señalado para la variedad Valencia (21). Los valores de sólidos solubles están dentro de los límites establecidos para las diferentes variedades de naranja (18). La variedad California presenta un valor de 11,4 °Brix, valor muy próximo al establecido para la Valencia (21) que fue de 11,2°Brix.

Con respecto al índice de madu-

Cuadro 1. Caracterización fisicoquímica del jugo de naranja (*Citrus sinensis* L.)¹

| Análisis | Variedades | | | |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | California | Pineapple | Criolla | Cajera |
| pH | 4, 3 ± 0,1 | 3, 8 ± 0,1 | 3, 5 ± 0,1 | 2, 8 ± 0,1 |
| Sólidos solubles (°Brix) | 11, 4 ± 0,1 | 12, 1 ± 0,1 | 11, 0 ± 0,1 | 12, 5 ± 0,1 |
| Acidez total (*) | 0, 81 ± 0,01 | 0, 90 ± 0,01 | 1, 21 ± 0,01 | 1, 34 ± 0,01 |
| Índice de madurez (**) | 13, 3 ± 0,9 | 13, 22 ± 0,2 | 9, 1 ± 0,1 | 9, 3 ± 0,1 |

*Gramos de ácido cítrico/100 mL de jugo.

** Relación °Brix/acidez.

1: Valor promedio de tres determinaciones ± desviación estándar

rez las variedades California y Pineapple presentaron los mayores valores de madurez 13,84 y 13,22, respectivamente, valores que se pueden atribuir a que las muestras fueron seleccionadas sin rastro aparente de clorofila ya que estos metabolitos interfieren con los análisis de carotenoides (21). La variedad California presentó el valor de madurez más cercano a la Valencia el cual es de 13,8 (4). La variación de los valores obtenidos de pH, acidez, sólidos solubles e índices de madurez entre las variedades puede atribuirse a las condiciones climáticas, condiciones del suelo y a las estaciones del año en que se hace la recolección.

Los resultados de la caracterización fisicoquímica, de las cáscaras de la naranja, se presentan en el cuadro 2. Los valores de humedad obtenidos para las cuatro variedades estudiadas se encuentran entre 72,83 y 59,62%, siendo la variedad californiana la que presentó el valor más cercano (66,50%) a la variedad Valencia (21).

En el cuadro 3 se presentan los

resultados promedios obtenidos de los carotenoides totales, para las cuatro variedades de naranja estudiadas. El análisis de varianza indica que no se encontraron diferencias significativas entre las variedades estudiadas independientemente del solvente utilizado ($P < 0,05$), lo cual significa que, estadísticamente, las variedades Criolla, Pineapple, California y Cajera poseen igual contenido de carotenoides. En cuanto al efecto de los solventes sobre la extracción de carotenoides en cada variedad estudiada, el análisis de varianza indica que existen diferencias significativas entre éstos, por lo cual se realizó una prueba de medias con la que se determinó que la mayor concentración de CCT/kg se obtuvo al realizar la extracción de carotenoides con la mezcla 75% hexano 25% éter ($P < 0,05$). Estos resultados coinciden con los señalados en otra investigación (4) con la variedad Valencia usando la misma la relación de solventes. La variedad Criolla presentó el mayor contenido de carotenoides totales en la mezcla

Cuadro 2. Caracterización fisicoquímica de las cáscaras de naranjas (*Citrus sinensis* L.)¹

| Análisis | Variedades | | | |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | California | Pineapple | Criolla | Cajera |
| Humedad (%) | 66, 50± 0,38 | 59, 62± 0,46 | 72, 83± 0,56 | 69, 13± 0,53 |

1: valor promedio de tres determinaciones ± desviación estándar

Cuadro 3. Concentración de carotenoides totales (CCT) en las cáscaras de cuatro variedades de naranjas (*Citrus sinensis* L) estudiadas utilizando diferentes mezclas de solvente.

| Variedad | Concentración (mg CCT/kg cáscara) | |
|------------|-----------------------------------|-------------------|
| | 75% Hexano- 25% éter de petróleo | 100% Hexano |
| California | 120,0 ^a | 70,0 ^b |
| Criolla | 140,0 ^a | 60,0 ^b |
| Cajera | 103,3 ^a | 53,3 ^b |
| Pineapple | 110,0 ^a | 60,0 ^b |

Nota: letras distintas en una misma columna y fila existen diferencias significativas (P<0,05).

(75% hexano: 25% éter de petróleo) y la variedad California en el solvente hexano; estas diferencias pueden deberse a la composición intrínseca de los compuestos (8).

Al comparar los valores de carotenoides obtenidos de las cáscaras de naranjas (*Citrus sinensis* L. var criolla) con el del pericarpio de *Cyphomandra betacea* Sendth var. Roja (8), *Citrus reticulata* variedades

Dancy y Sapa (King) (28) y *Citrus sinensis* L. var.Valencia (4) en el tratamiento con hexano-éter, se observó que la *Cyphomandra* tiene un alto poder de pigmentación, pero a su vez la naranja variedad Criolla posee mayor contenido de carotenoides que la naranja variedad valencia y la *Citrus reticulata* lo que la hace una fuente pigmentaria importante.

Conclusiones

Los parámetros fisicoquímicos evaluados para las cuatro variedades están dentro de los intervalos señala-

dos para las variedades de *Citrus sinensis* L. La extracción y cuantificación de los carotenoides to-

tales para las cuatro variedades estudiadas resultó idóneo. La mayor extracción de los pigmentos se obtuvo de la mezcla de hexano-éter de petróleo (75:25) independientemente de la muestra utilizada. La variedad Criolla presentó la mayor concentración

de carotenoides totales (140 mg CCT/kg) para la mezcla hexano - éter de petróleo. No se determinaron diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales para las variedades estudiadas utilizando una misma mezcla de solvente.

Agradecimiento

Los autores agradecen a UNESR-FONACIT por el

cofinanciamiento a esta investigación No. Pem-2001002271.

Literatura citada

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Ass. Agric. Chem. 15 th. Washington, D.C. 1298 p.
2. Avilán, L., F. Leal, y D. Bautista. 1989. Manual de fruticultura. América, Caracas. pp.1316-1317.
3. Braverman, J. 1980. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. Tercera Edición.
4. Castro, R. y L. Suárez. 2002. Recuperación de colorantes a partir de desechos agroindustriales de naranja (*Citrus sinensis* L.) Variedad Valencia, a nivel piloto. Tesis de Grado. Carrera de Ingeniería de alimentos. Universidad Nacional Experimental. Simón Rodríguez. Canoabo. Venezuela.
5. Cerezal, P., T. Marrero y R.M. Piñera. 1994. Fuentes de Carotenoides a partir de residuos de naranja. Estudio preliminar. In Memorias IV Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Palacio de Las Convenciones de La Habana, La Habana. p. 28.
6. Cerezal, P. y R. Piñera. 1996. Carotenoids in Citrus fruit: general aspects, obtention from processing wastes and applications. *Alimentaria* 277:19-32
7. Delgado, F., A. Jiménez y D. Paredes. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains. Characteristics, biosynthesis processing and stability. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*. 40:1520-1523.
8. Durán, M. y M.J. Moreno-Álvarez. 2000. Evaluación de algunas mezclas de solvente en la extracción de carotenoides de tamarillo (*Cyphomandra betaceae* Sendt). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 3:34-38.
9. Emodi, A. 1978. Carotenoids. Properties and Applications. *Food Technology* 32(5):38- 42.
10. Fonaia. 1986. El cultivo de la naranja dulce. Serie Paquetes Tecnológicos N°3-02, Maracay. 140 p.
11. Fundación Servicio Para El Agricultor (FUSAGRI). 1983. Cítricas. Serie Petróleo y Agricultura, Maraven. 143 p.
12. Garrido, J. y M. Minguez. 1983. Pigmentos carotenoides. *Grasas y Aceites* 34:339-343.
13. Henríquez, M. 1995. Análisis de algunos componentes en el mercado de la naranja (*Citrus sinensis* L.). Trabajo de Ascenso. Universidad Nacional Simón Rodríguez, Canoabo. 94 p.

14. Isaksen, M. y G. Francis. 1988. Thin-layer chromatography of carotenoids with tertiary alcohol-petroleum ether solutions as developing solvents. *Journal of Food Science* 53(3): 979-980
15. Kale, P.N. y P.G. Adsule. 1995. Citrus. In Salunkhe, D.K. and Kadam, S.S., eds. *Handbook of Fruits Science and Technology; Production, Composition, Storage and Processing*. Marcel Dekker Inc. New York. pp. 39-65. Kefford, J. 1959. The chemicals constituents of citrus fruits advance in food researcj USA. 395 pp.
16. Kopas-Lane, L.M. y J.J. Warthesen. 1995. Carotenoid Photostability in Raw Spinach and Carrots During Cold Storage. *Journal of Food Science* 60(4): 773-776
17. Martínez-Valverde, I., M.J. Periago, y G. Ríos. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 50(1):5-18.
18. Mendoza, L. 2003. Evaluación de los carotenoides presentes en la cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L) variedades californiana (Washington navel), pineapple, criolla y cajera. Ingeniería de alimentos. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. Canoabo. Venezuela. 96p.
19. Moreno-Álvarez, M.J., C. Gómez, J. Mendoza y D. Belén. 1994. Determinación de carotenoides totales en desechos industriales de cáscara de naranja *Citrus sinensis* var. Valencia en el Occidente de Carabobo, Venezuela. In *Memorias IV Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. Palacio de las Convenciones de La Habana. La Habana p. 39.
20. Moreno-Álvarez, M.J., L. Graterol y J. Alvarado. 1999. Carotenoides totales del pericarpio de algunos tipos de lechosa. *Revista Unellez Ciencia y Tecnología* 17:100-107.
21. Moreno-Álvarez, M.J., C. Gómez, J. Mendoza y D. Belén. 1999. Carotenoides totales en cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L. variedad Valencia). *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*. 17 (1): 92-99.
22. Moreno-Álvarez, M.J., J.G. Hernández, R. Rovero, A. Tablante y L. Rangel. 2000. Alimentación de tilapia con raciones parciales de cáscaras de naranja *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología Alimentaria* (España) 3:29-33.
23. Padrón, C. y M.J. Moreno-Álvarez. 1999. Extracción de colorantes de naranjas por todos no convencionales y su utilización para fortificar naranjadas *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología* 17:125-140.
24. Philip, T. y T. Chen. 1988. Quantitative analysis of major carotenoid fatty acid ester in fruit by liquid chromatography: persimmon and papaya. *Journal Food Science*. 53(6):1720-1722.
25. Philip, T. y T. Chen. 1988. Development of method for the quantitative estimation of carotenoids in some fruits. *Journal of Food Science* 53(6):703-706.
26. SAS.1990. SAS users guide: statistics. Cary, N.C: SAS institute. 99 p.
27. Sánchez, A., L. Flores-Cotera, E. Langley, R. Martín, G. Maldonado y S. Sánchez. 1999. Carotenoides: estructuras, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Revista Latino-americana de Microbiología* 41:175-191.
28. Yovera, J., M. Tovar y M.J. Moreno-Álvarez. 2001. Evaluación del contenido de carotenoides en cáscaras de mandarina *Citrus reticulata* Blanco. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología* 19:73-77.
29. Vega, P., M. Balaban., C. Sims, S. O'Keefe y J. Cornell. 1996. Supercritical carbond i o x i d e extraction efficiency for carotenes from carrots. *Journal of Food Science* 61(4):757-765.