

Efecto de los parámetros de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de cera de nopal (*Opuntia spp*)

D.M. Delgado-Salas¹, M.A. Ruíz-Cabrera¹, R. González-García¹, J.A. Morales-Rueda² y A. Franco-Vega¹.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. ² Coordinación Académica Región Altiplano Oeste, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. avelina.franco@uaslp.mx

RESUMEN: La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es una tecnología emergente con capacidad de extraer metabolitos secundarios de interés, reduciendo tiempo y energía de proceso; sin embargo, su uso para la obtención de ceras vegetales es limitado. El objetivo general de este trabajo fue determinar el efecto de los parámetros de la EAU en la obtención de cera de *Opuntia Spp*. Para esto fue utilizado un diseño de experimentos combinado de mezclas con variables de proceso, durante las extracciones se utilizaron como solventes agua, hexano y alcohol isopropílico en diferentes proporciones de mezcla (0-1), amplitud de ultrasonido entre 20 y 70% y temperaturas entre 20 y 50°C. Se determinó el rendimiento (R) y punto de fusión (PF) de las ceras obtenidas. A partir de los resultados se obtuvieron las superficies de respuesta para la optimización de R y PF. De acuerdo a los resultados obtenidos, el uso de mezclas de hexano con alcohol isopropílico, y la interacción entre la amplitud y la temperatura favorecen la extracción ($p < 0.05$) con la obtención de rendimientos de hasta 2.6%); mientras que la temperatura de fusión de la cera varía según la composición de la mezcla de solventes.

Palabras clave: Extracción asistida por ultrasonido, cera vegetal, *Opuntia Spp*.

ABSTRACT: Ultrasound-assisted extraction (UAE) is an emerging technology with the ability to extract secondary metabolites of interest, reducing time and energy of process; however, its use for obtaining vegetable waxes is limited. The general objective of this work was to determine the effect of the parameters of UAE in *Opuntia Spp* wax extraction. For this, a design of experiments with mixtures and process variables was used. During the extractions water, hexane and isopropyl alcohol in different proportions of mixture (0-1) were used as solvents, while ultrasound amplitude between 20-70% and temperatures between 20-50°C were applied as process parameters. The yield (R) and melting point (PF) of the obtained waxes were determined. From the results, response surfaces were established for the optimization of R and PF. According to the obtained results, the use of mixtures of hexane with isopropyl alcohol, and the interaction between amplitude and temperature enhance the extraction ($p < 0.05$) obtaining yields greater than 2.6%; while the melting temperature of the wax varies according to the composition of the solvent mixture.

Key words: Ultrasound-assisted extraction, vegetable wax, *Opuntia Spp*.

Área: Aprovechamiento y valorización de subproductos

INTRODUCCIÓN

Las ceras vegetales se encuentran dentro de los compuestos naturales con gran aplicación biológica e industrial, en la actualidad en el área de alimentos se está investigando ceras comestibles, que además de recubrir puedan proveer de alguna propiedad funcional o tecnológica a los alimentos que la contengan (Ramírez y col., 2016). En México existen plantas generadoras de cera, dentro de estas plantas se encuentran la candelilla, jojoba y nopal, en el caso de la cera del nopal su información es escasa reportándose solo su existencia en las pencas de esta planta encontrándose tanto como cera cuticular e intracuticular. La especie *Opuntia spp* (nopal) es endémica del altiplano potosino y dentro de su composición se ha reportado la presencia de cera, si bien este tipo de planta suele ser usada como forraje, podría ser aprovechada para la obtención de cera aumentando así su importancia económica, pero al momento su caracterización física y química es inexistente debido a que no se cuenta tecnologías adecuadas para su separación.

Uno de los factores de relevancia en la calidad de la cera natural es el método de extracción por el cual es obtenida, sin embargo, una de las mayores limitantes de su uso es la falta de técnicas de extracción eficientes. Los métodos

tradicionales de extracción de lípidos (Técnica de Folch, Bligh y Dyer, Radin y Extracción Soxhlet), han demostrado tener la capacidad de dar buenos resultados, pero en la mayoría de los casos involucran un gran gasto energético y uso de grandes cantidades de solventes. Debido a esto, tanto la industria como la academia buscan en la actualidad tecnologías emergentes de separación que sean eficientes, económicas y favorables al ambiente para la extracción de estas sustancias.

Las tecnologías emergentes, hoy en día se encuentran en estudio, las cuales han permitido que el uso de solventes, tiempo y energía del proceso se vean disminuidos. Dentro de las diferentes tecnologías emergentes que se han propuesto, la extracción asistida por ultrasonido (EAU) ha demostrado ser más eficiente que los métodos de extracción tradicionales, y más económica y sencilla que otros métodos de extracción emergentes, demostrando así su potencial para ser usada a nivel industrial en la extracción de compuestos vegetales (Azuola y col., 2007). En el caso de la extracción de ceras naturales, a la fecha son muy pocos los reportes que se encuentran del uso de la EAU para su separación. Adam y col (2012) reporta el uso de EAU como un método de extracción efectivo que favorece la reducción en el uso de solventes para la separación de lípidos presentes en biomasa de *Nannochloropsis oculata*, reportando que la obtención de cera fue mejorada por el método y los factores del proceso estudiados.

Debido a lo anterior el objetivo general de este trabajo es analizar el efecto que tendría en los parámetros de la EAU en el rendimiento de extracción y punto de fusión de la cera epicuticular de *Opuntia spp* con el fin de determinar si la EAU podría representar una mejor alternativa para la obtención de este compuesto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención de la cera se utilizarán las pencas de nopal (*Opuntia spp*), las cuales fueron obtenidas de un productor local del municipio de Salinas S.L.P. en la temporada de Mayo-Agosto 2018.

Como solventes serán utilizados agua, hexano y alcohol isopropílico; los cuales serán adquiridos del proveedor de Reactivos y Equipos (San Luis Potosí, S.L.P.).

-Extracción asistida por ultrasonido de alta intensidad (EAUI)

La extracción asistida por ultrasonido de alta intensidad (EAUI) fue realizada en un sonoreactor. Las extracciones fueron llevadas a cabo utilizando el polvo del nopal seco mezclado con solvente en una relación 1:4 p/v a tres temperaturas diferentes (20-50°C), tres amplitudes de ultrasonido diferentes (20- 70%) y mezclas de los tres solventes seleccionados.

-Tratamiento posterior de la muestra

Una vez obtenido el producto de la sonicación, se llevó a un post tratamiento de acuerdo a lo reportado por Adam y col., (2012). Para esto se colocó el producto en un recipiente ámbar y en refrigeración hasta su utilización, después fue centrifugado (4700 rpm por 30 min), y el sobrenadante se evaporó, hasta obtener una capa cerosa. La determinación del R de cada proceso fue determinada con la ecuación 1:

$$\text{Rendimiento} = \left(\frac{\text{Masa de la cera vegetal obtenido}}{\text{Masa de la materia prima antes de la extracción}} \right) \times 100 \quad (\text{Ec } 1)$$

-Propiedades físicas de la cera

Como propiedades físicas de las ceras obtenidas de cada extracción se determinó el punto de fusión por medio de una adaptación la norma mexicana NMX-F-114-SCFI-2011.

-Optimización y análisis estadístico

Fue llevado a cabo un diseño de experimentos combinado entre factores de mezcla y proceso. Los factores de mezcla fueron los componentes del solvente usados: agua (A), hexano (H) y alcohol isopropílico (I); mientras que los factores de proceso fueron la amplitud de ultrasonido (Am) y la temperatura (T). Derivado de lo anterior se obtuvo un plan con 50 experimentos para determinar el efecto de la mezcla de solventes, amplitud y temperatura sobre el rendimiento de extracción de cera y su punto de fusión. Se llevó a cabo el análisis de varianza (ANOVA) con un modelo de regresión cuadrático tanto para los factores de mezcla como de proceso, tomando un nivel de

significancia de 5% ($\alpha=0.05$). Los modelos de regresión fueron usados para predecir las condiciones óptimas de rendimiento máximo y punto de fusión acorde a las características necesarias para la aplicación de la cera.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra el efecto que presentaron los parámetros de la mezcla de solventes (agua, hexano, alcohol isopropílico) sobre el rendimiento y punto de fusión de la cera de nopal extraído por ultrasonido. En la gráfica de la figura 1A se presentan las condiciones en las cuales fue obtenido el mayor rendimiento. Utilizando una amplitud de 70 % y temperatura de 20 °C se tiene un rendimiento máximo de 2.6 % usando una mezcla de solventes que contiene, hexano a 0.4, agua a 0.3 y alcohol isopropílico a 0.3. Al comparar nuestros resultados por EAU en las condiciones óptimas para la extracción de cera de nopal, con lo obtenido por el método tradicional Soxhlet (4.07±0.49%), encontramos que si bien la EAU propuesta se obtienen rendimientos más bajos (36%) que por la técnica tradicional, desde un punto de vista energético, el proceso de EAU es más viable, debido a que la extracción a condiciones óptimas tiene un tiempo de proceso de 30 min, y se da a temperatura cercana al ambiente aproximadamente entre 20 °C a 30 °C, mientras que la extracción Soxhlet necesita 60 °C por un tiempo aproximado de 8h para obtener un rendimiento máximo, asociado a esto el gasto de solvente de la extracción Soxhlet es 3 veces mayor que por EAU. Por su parte, Adam y col., (2012) ha reportado 0.21% de rendimiento EAU en la extracción de lípidos de las microalgas *Nannochloropsis oculata*. Si bien el resultado de este investigador es menor que el obtenido por nosotros, la especie, variedad y estado fisiológico de la materia prima influye en el rendimiento obtenido por el tipo de técnica o proceso (Wilkinson y col., 1990). En el caso del punto de fusión, según lo reportado Morales (2015), de las ceras vegetales más usadas para la aplicación en alimentos se encuentran las ceras de candelilla y carnauba, las cuales tienen puntos de fusión de 65-69 y de 83-91°C, respectivamente. En la figura 1B con parámetros de amplitud de 70 % de amplitud se presenta un punto de fusión de 85 °C usando una mezcla de solventes que solo contiene, hexano a 0.1 y agua a 0.9; Comparando los datos anteriores con el intervalo de punto de fusión la cera de Carnauba, esta es la que más se aproximan con la cera de nopal en su punto de fusión por lo cual podría esperarse que tuviera su misma aplicación.

A partir de este análisis, aquellos factores que mostraron un efecto significativo ($p<0.05$) sobre las respuestas del proceso fueron utilizados en los modelos matemáticos para la optimización del proceso. La ecuación 2 y 3 muestran los modelos codificados para la obtención del rendimiento máximo y el punto de fusión, respectivamente.

Ambos modelos mostraron un buen ajuste a los datos experimentales ($R^2 \approx 0.9$). A partir de ellos se determinó que para obtener el rendimiento máximo (2.7%) era necesario trabajar a temperatura de 20 °C y amplitud de 70 % con una mezcla de solventes de hexano a 0.525, agua a 0.182, alcohol isopropílico a 0.292, mientras que para obtener un punto de fusión máximo (85.961°C) es necesario trabajar a temperatura de 50 °C y amplitud de 70 % con una mezcla de solventes de hexano a 0.561, agua a 0.258, alcohol isopropílico a 0.181.

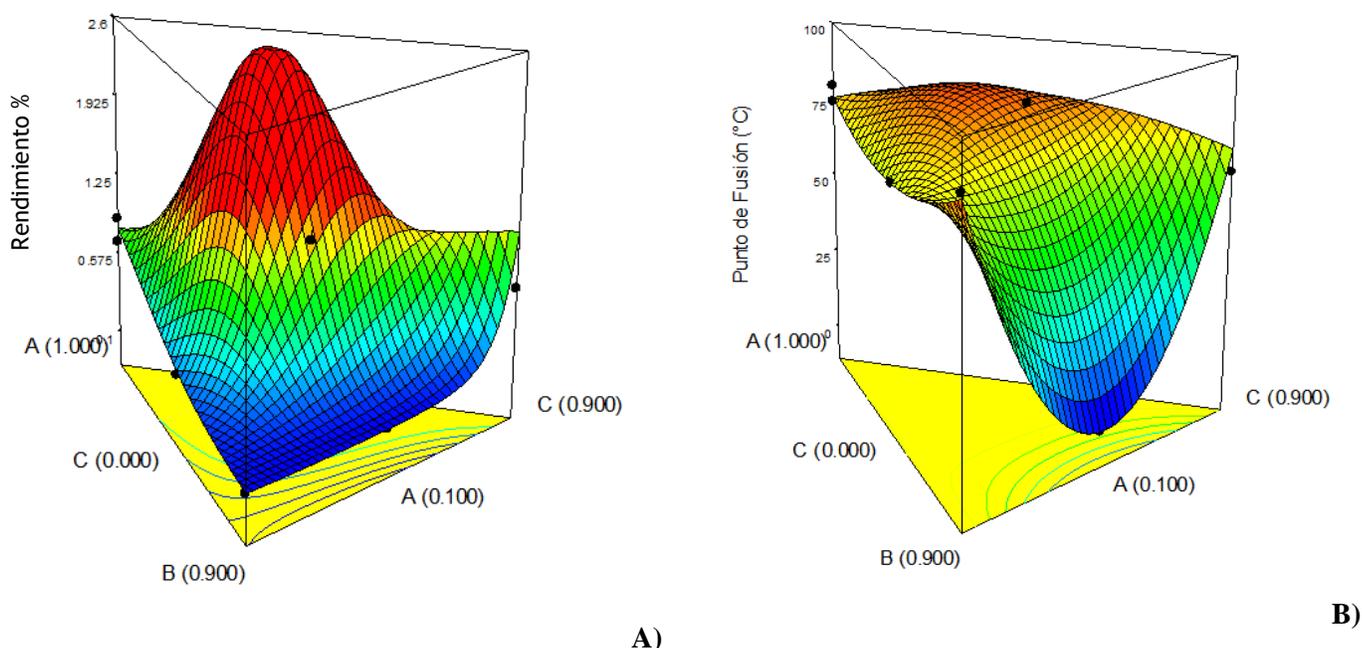


Figura 1. Efecto de los parámetros de proceso y mezcla de la EAU en el rendimiento y punto de fusión de cera de *Opuntia spp.* A) Rendimiento a 70% de amplitud y 20°C, B) Punto de fusión a 70% de amplitud y 20°C. (A: Hexano, B: Agua, C: Alcohol isopropílico)

$$\begin{aligned} \ln R = & -0.785A - 3.358B - 4.910C + 11.385AB + 6.351AC + 0.017AD + 0.009AE + 30.369BC - 0.013BD - \\ & 0.008BE + 0.090CD + 0.068CE - 366.296ABC - 0.244ABD - 0.182ABE - 0.059ACD - 0.054ACE - 0.0002ADE - \\ & 1.086BCD - 0.835BCE - 0.0001BDE - 0.001CDE + 9.753ABCD + 7.508ABCE + 0.006ABDE - \\ & 0.001ACDE + 0.020BCDE - 0.184ABCDE \end{aligned} \quad (\text{Ec. 2})$$

$$\begin{aligned} PF = & 53.029A + 91.509B + 142.644C - 97.559AB - 79.834AC + 0.513AD + 0.334AE - 46.783BC + 0.148BD + 0.103BE - \\ & 2.078CD - 1.299CE - 4603.215ABC + 0.664ABD + 0.047ABE + 4.991ACD + 2.993ACE - 0.007ADE - \\ & 7.952BCD - 6.351BCE - 0.008BDE + 0.04CDE + 107.310ABCD + 81.684ABCE + 0.015ABDE - \\ & 0.130ACDE + 0.097BCDE - 1.399ABCDE \end{aligned} \quad (\text{Ec. 3})$$

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la EAU es un método capaz de extraer ceras cuticulares del cladodio de nopal *Opuntia streptocantha*. Si bien la EAU es capaz de permitir menor de gasto de energía y solvente en el proceso, dado que se puede realizar en un corto tiempo de 30 min y a una temperatura cercana al ambiente, el rendimiento obtenido durante el proceso depende también de la especie de nopal, su edad y la temporada del año en el que el cladodio es cosechado.

BIBLIOGRAFÍA

- Adam, F., Abert Vian, M., Peltier, G., Chemat, F. 2012. "Solvent-free ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: A green, clean and scalable process". *Bioresource Technology.*, Vol. 114, pp. 457–465.
- Azuola, R. y Vargas-Aguilar, P. 2007. "Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA)". *Revista Tecnología en Marcha*, Vol. 20, No., pp. 30-40.
- Morales Hernandez Moises. (2015). *Evaluación de las propiedades de candelilla y carnauba para su aplicación en emulsiones ceras de uso comercial*. Tesis en Ingeniería Química Industrial. Instituto Politécnico Nacional, escuela superior de ingeniería química e industrias extractivas. México D.F.

- NMX-F-114-SCFI-2011. (2011). Norma mexicana, alimentos, grasas y mantecas vegetales o animales - determinación de punto de fusión – método de prueba, *Secretaría de Economía*. Obtenida de: <file:///C:/Users/Bullpen/Downloads/NMX-F-114-SCFI-2011.pdf> (Consultada el 27 de Febrero del 2019).
- Ramírez Gómez, N.O., Acevedo, N.C., Toro Vázquez, J.F., Ornelas Pazc, J.J., Dibildox Alvarado a, E., Pérez Martínez, J.D. 2016. “Phase behavior, structure and rheology of candelilla wax/fully hydrogenated soybean oil mixtures with and without vegetable oil”. *Food Research International*, Vol. 89, pp. 828 –837.
- Wilkinson Robert E., Mayeux Herman S. y Jr. 1990. Composition of epicuticular wax on *Opuntia engelmannii*. *The University of Chicago Press*, 151(3), 342-347.