

Síntesis, caracterización y purificación de ácido cítrico a partir de residuos de granada y piña en el municipio de Guanajuato

Synthesis, characterization and purification of citric acid from pomegranate and pineapple waste in the municipality of Guanajuato

Paola Monserrat Gutiérrez Alba ¹, Daniela Heredia Paniagua ¹, América de Jesús Alvarado Hinojosa ¹, Guillermo Manuel González Guerra ², Fernando Israel Gómez Castro ²

¹ Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, México.

² Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, México.
pm.gutierrezalba@ugto.mx, d.herediapaniagua@ugto.mx, adj.alvaradohinojosa@ugto.mx

Resumen

Actualmente existe una fuerte crisis de residuos sólidos urbanos en el estado de Guanajuato, en donde los residuos de frutas y vegetales representan un gran porcentaje, recolectados en una proporción importante de los mercados y centrales de abastos. La mala disposición de estos residuos en Guanajuato se asocia con prácticas como la quema o el abandono en el campo, lo que genera problemas ambientales como plagas, contaminación del suelo y emisiones de CO₂. Por otro lado, el ácido cítrico es uno de los ácidos orgánicos más utilizados por sus propiedades conservantes, antioxidantes y quelante, teniendo un alto potencial de aplicación en diversas industrias como la alimentaria, farmacéutica, cosmética, entre otras. Sin embargo, las tecnologías de obtención de este tipo de ácidos son costosas y generan desechos contaminantes como ácidos corrosivos. En el presente trabajo se presenta el desarrollo de una ruta de conversión utilizando residuos de granada y piña para la obtención de ácido cítrico. El esquema de proceso incluye una hidrólisis ácida y una ruta fermentativa haciendo uso de *Aspergillus niger*, además de una ruta de purificación para la obtención de cristales del ácido cítrico. Finalmente, se realizó una caracterización a los productos obtenidos, para la cuantificación de la cinética de azúcares reductores y ácido cítrico, con refractometría y titulación ácido base. Se obtuvieron resultados de hasta 2g de ácido cítrico cristalizado, lo que visibiliza a la ruta de conversión propuesta como una síntesis viable y con potencial a continuar desarrollando.

Palabras clave: ácido cítrico, *Aspergillus niger*, azúcares reductores.

Introducción

Un tipo de biomasa que se produce en grandes volúmenes en el país está dado por los residuos orgánicos, en particular los residuos de frutas y vegetales que ya no son aptos para el consumo humano [1]. Estos residuos son una materia prima de bajo costo y con alta disponibilidad de azúcares, lo cual los hace candidatos para procesos fermentativos. Un tipo de residuo de fruta que se produce en altas proporciones en México es el de granada (*Punica granatum L.*), la cual se genera más de 10,090 toneladas por año [2]; respecto a la piña (*Ananas Comosus L.*), México produce más de 700 toneladas por año, ubicándose como el noveno país con la mayor producción [3]. Sin embargo, el 32.78% de la producción de esta materia prima se desperdicia y resulta en desechos sin tener normas para su disposición final o aprovechamiento [4].

Por otro lado, en el estado de Guanajuato la abundancia de residuos como cáscaras y semillas de frutas, incluyendo la granada y la piña, abre una oportunidad para su aprovechamiento biotecnológico, transformándolos en derivados de alto valor mediante procesos fermentativos [5].

En este sentido, los ácidos orgánicos presentes de manera natural en diversos procesos biológicos y ambientales han cobrado relevancia debido a su impacto en la contaminación ambiental. Estos compuestos pueden contribuir a fenómenos como la acidificación de suelos y cuerpos de agua, afectando la biodiversidad y los ciclos biogeoquímicos con gran eficiencia ecológica [6]. La descomposición y acumulación de ácidos orgánicos en ambientes subterráneos promueve reacciones químicas que generan especies reactivas del oxígeno, involucradas en la degradación de contaminantes emergentes [7,8]. Además, su interacción con minerales contribuye a la transformación y atenuación natural de sustancias tóxicas, aunque también puede derivar en la movilización de metales pesados y alteración de cobertura orgánica, lo que representa un desafío ambiental significativo. Sin embargo, su producción y manejo controlados permiten obtener componentes de gran valor para distintas industrias.

El ácido cítrico es un ácido orgánico de gran importancia industrial debido a su uso como acidulante, conservante, agente quelante y regulador de pH en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. Aunque este compuesto fue originalmente aislado de los jugos de frutas cítricas, la producción industrial del ácido cítrico dio un gran giro fundamental en 1917, cuando Currie descubrió la capacidad de hongo *Aspergillus niger* para producirlo a partir de sustratos como la sacarosa. Desde entonces, la fermentación microbiana con *Aspergillus niger* se ha consolidado como el método preferente de obtención a la acidificación y la versatilidad del hongo para utilizar diversas materias primas, incluyendo residuos agroindustriales como las cáscaras de granada, mango o naranja [6]. Por lo tanto, la actual tendencia se orienta hacia la búsqueda de procesos más sostenibles y económicamente atractivos, aprovechando subproductos agrícolas como fuentes alternativas de carbono [9].

Respecto a lo reportado previamente por el grupo de trabajo, se ha desarrollado un proceso de conversión para la producción de ácido cítrico utilizando residuos de frutas y vegetales [5]. Sin embargo, no se ha realizado un análisis profundo de las proporciones de los precursores, en este caso granada y piña, así como una evaluación de las etapas de hidrólisis y purificación.

En este presente trabajo, se realizó la producción de ácido cítrico a partir de residuos de granada y piña a través de una ruta de hidrólisis ácida y una fermentación con *Aspergillus niger*, asimismo, se desarrolló una etapa de purificación a partir de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y H_2SO_4 , para la purificación de impurezas en las soluciones y su cristalización. La ruta de síntesis del ácido tuvo como base lo reportado anteriormente por el grupo de trabajo [10]. Los productos obtenidos fueron caracterizados para la evaluación de la viabilidad de la ruta, así como la determinación de la cantidad de ácido cítrico obtenido al final del proceso de conversión.

Materiales y métodos

Síntesis del ácido cítrico a partir de residuos de granada y piña

Recolección de materia prima

Se recolectaron muestras de residuos de granada y piña con locatarios del Mercado Hidalgo en el Municipio de Guanajuato.

Secado y Pesado

Después de la recolección, estos residuos pasaron por un proceso de secado en un deshidratador SAGAON Tech V2. Una vez finalizado el secado, las muestras son pulverizadas y neutralizadas empleando NaOH 1 M, con la finalidad de ajustar el pH hasta un valor de 8.0. Posteriormente, se pesaron las proporciones de la mezcla granada:piña 2:1, 1:2, 1:5, 5:1, 10:1 Y 1:10, 24 gramos en total en frascos Erlenmeyer de 250 mL.

Hidrólisis y Neutralización

Se realizó la etapa de hidrólisis al agregar a cada una de las proporciones 100 mL de H_2SO_4 al 0.5%, posteriormente se calentaron las soluciones resultantes por una hora a 60 °C. Una vez finalizada la etapa de hidrólisis, se filtró la fracción sólida, llevando a cabo la neutralización con la cascara filtrada, ajustando un pH≈5 con NaOH 0.1M.

Fermentación

Para la etapa fermentativa, se llevó a cabo el cultivo de *Aspergillus niger*, realizando la siembra y cuantificación del hongo a partir de lo reportado anteriormente por el grupo de trabajo [11]. Una vez que se cuantificó el microorganismo, se realizó la fermentación de las muestras a 25°C por 6 días, la solución resultante se puso en contacto con una atmósfera de nitrógeno, finalizando con una etapa de separación, utilizando una centrifuga electrónica de la marca Zenithlab a 2500 revoluciones por 20 minutos para separar la fase sólida.

En la Figura 1 se muestra un diagrama correspondiente al proceso para la obtención de ácido cítrico a partir de los residuos de granada y piña.

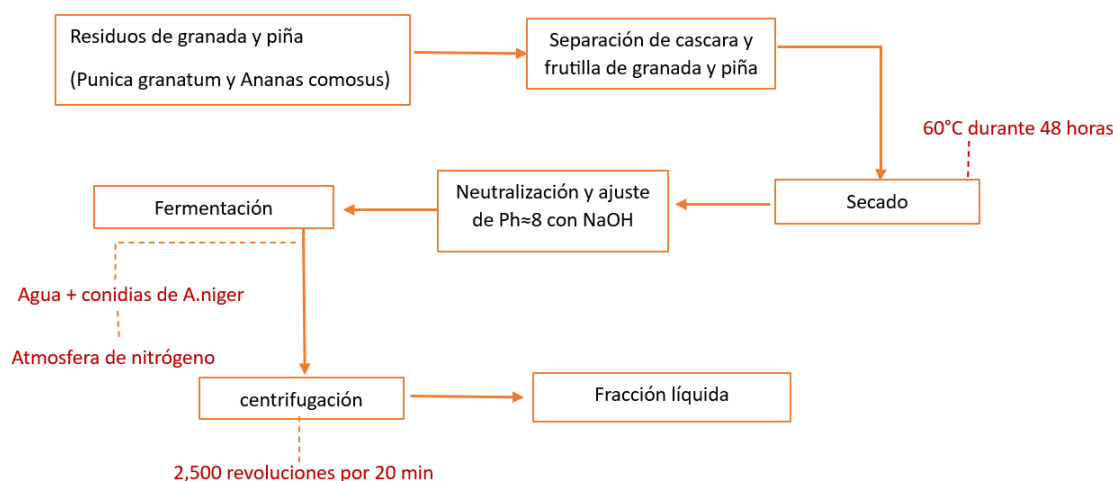


Figura 1. Diagrama de la metodología para la síntesis de ácido cítrico a partir de residuos de granada y piña.
Fuente: Elaboración propia.

Evaluación de la etapa de purificación

Para la etapa de purificación; una vez obtenido el centrifugado posterior a la etapa fermentativa (aguas madres), se realizó un ajuste de pH $\approx 6.5 - 7.5$ con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 5% con la finalidad de precipitar citrato cálcico de la solución madre, utilizando una constante agitación por 30 minutos. Posterior a esto, se centrifugó a 2500 rpm durante 20 minutos, con la finalidad de recuperar el precipitado. Una vez obtenido el citrato cálcico, se ajustó el pH ≈ 2 con H_2SO_4 al 10% para obtener en solución el ácido cítrico y precipitar sulfato de calcio. Finalmente, la solución sin el precipitado se llevó a un baño de hielo por 24 horas a una temperatura de -4°C . En la Figura 2 se muestra el diagrama correspondiente al proceso de purificación de la producción de ácido cítrico a partir de los residuos de granada y piña.

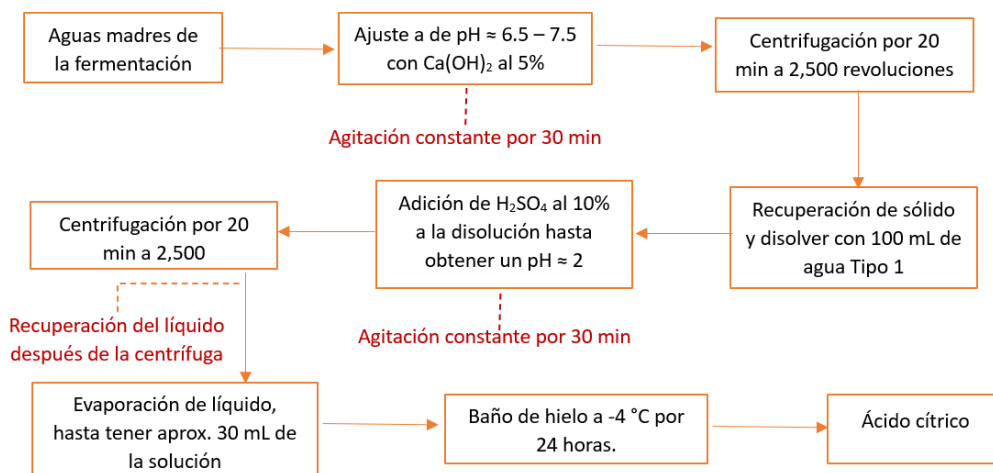


Figura 2. Diagrama para la obtención del ácido cítrico.
Fuente: Elaboración propia.

Para corroborar que los cristales obtenidos son de ácido cítrico, se realizó una prueba colorimétrica, dicha prueba consiste en la adición de acetona al 20%, 5 mL de agua desionizada y 1 mL de H_2SO_4 concentrado a 10mg de los cristales obtenidos. La mezcla de estos reactivos da lugar a un complejo colorimétrico amarillo-naranja con el ácido cítrico [11].

Caracterización de la cinética de fermentación por medio de la refractometría

Se analizó la cinética durante 6 días correspondientes a la etapa fermentativa, por lo que cada día de la fermentación se recolectó 2mL en viales para su posterior análisis, así como también se recolectó 0.5mL para el análisis del %Brix en un refractómetro digital (Rhino Honey Digital Refractómetro IP65). La comparación de estos resultados se muestra en la Figura 5 y 6 de la sección de resultados.

Caracterización de la cinética de fermentación por medio de azúcares reductores

Para la cuantificación de los azúcares reductores se empleó el método con el reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosacílico) [12], y se procedió a llevarlos a espectroscopia UV-Vis para su lectura utilizando una absorbancia de 450 nm.

Curvas de titulación para la obtención del pKa

La determinación del pKa del ácido cítrico se realizó mediante titulación ácido-base utilizando una solución estándar de NaOH 0.001M como titulante. Como indicador se empleó fenolftaleína para identificar el punto de equivalencia de la solución, corroborado con mediciones potenciométricas de pH en cada adición del titulante.

Cuantificación del ácido cítrico por medio de espectroscopia UV-Vis

La medición del ácido cítrico se realizó siguiendo el método de espectroscopia UV-Vis, midiendo las absorbancias a una longitud de onda de 420 nm; las muestras tomadas de la cinética en la etapa fermentativa fueron llevadas a tubos de ensayo en relación 50:50 (500 uL de la solución madre ácido cítrico y 500 uL de agua desionizada) a esto se adiciona 0.65 mL de piridina y 2.85 mL de anhídrido acético, se produce una reacción colorimétrica y se deja en reposo por 20 minutos hasta que se enfríe y se procede con la lectura para realizar las lecturas correspondientes.

Resultados

Evaluación de la etapa de purificación

Posterior a la etapa de purificación, se pesaron los cristales obtenidos dando una cantidad de se obtuvieron 2 gr de ácido cítrico.

La prueba colorimétrica acetona- H_2SO_4 se realizó de la muestra 5:1, de forma que, al observarse una coloración amarillo-naranja puede corroborarse la presencia de ácido cítrico. En la Figura 3. (A) se puede observar la reacción producida de un blanco con ácido cítrico grado reactivo, percibiéndose una coloración amarilla. Adicionalmente se observa la reacción de la muestra 5:1 (Figura 3 (B)), visualizando una coloración amarillo-naranja, lo que nos indica la presencia de ácido cítrico en los cristales obtenidos después de la purificación. La intensidad del color refleja un alto contenido del ácido.



Figura 3. A) Reacción del blanco con acetona 20% y H_2SO_4 . B) Reacción de los cristales obtenidos de la muestra 5:1 con acetona 20% y H_2SO_4 .

Caracterización de la cinética de fermentación por medio de la refractometría

En las Figuras 4 y 5 se puede visualizar el comportamiento de la cinética de la etapa de fermentación de las síntesis con proporción 10:1, 5:1, 2:1, 1:10, 1:5, y 1:2 de granada: piña durante 6 días. Se muestra en la Figura 4 que las proporciones 10:1, 2:1 y 5:1 presentan un comportamiento inusual, ya que dos de ellas (2:1 y 10:1) tienen un comportamiento con un porcentaje ligeramente más alto en comparación con el reportado en el día 0, mientras que la síntesis 5:1 comienza y termina con el mismo porcentaje de azúcares reductores.

Por otro lado, se presentan en la Figura 5 las síntesis correspondientes a las proporciones 1:10, 1:5 y 1:2, donde se muestra un comportamiento más favorable, ya que las 3 muestras muestran una reducción del porcentaje de azúcares reductores en el sexto día en comparación con el día cero. El comportamiento descrito anteriormente, puede deberse al efecto que *Aspergillus niger* presenta sobre las proporciones de las síntesis durante la fermentación, ya que la granada es una fruta rica en ácidos, fenoles y taninos, y la piña es rica en azúcares como la sacarosa. Con esto se puede deducir que, debido al alto contenido de azúcares en la piña, *Aspergillus niger* tuvo mayor eficacia al consumir esos azúcares con mayor velocidad en las síntesis que contenían mayor proporción de piña, disminuyendo de forma significativa los °Brix, mientras que con las síntesis que contenían mayor proporción de granada, ocurrió todo lo contrario ya que el conjunto de sus componentes ya mencionados pudieron limitar la eficiencia metabólica de *Aspergillus niger*, de forma que se conservaran mayor cantidad de azúcares sin fermentar, reflejándose en el aumento de los °Brix en la Figura 4.

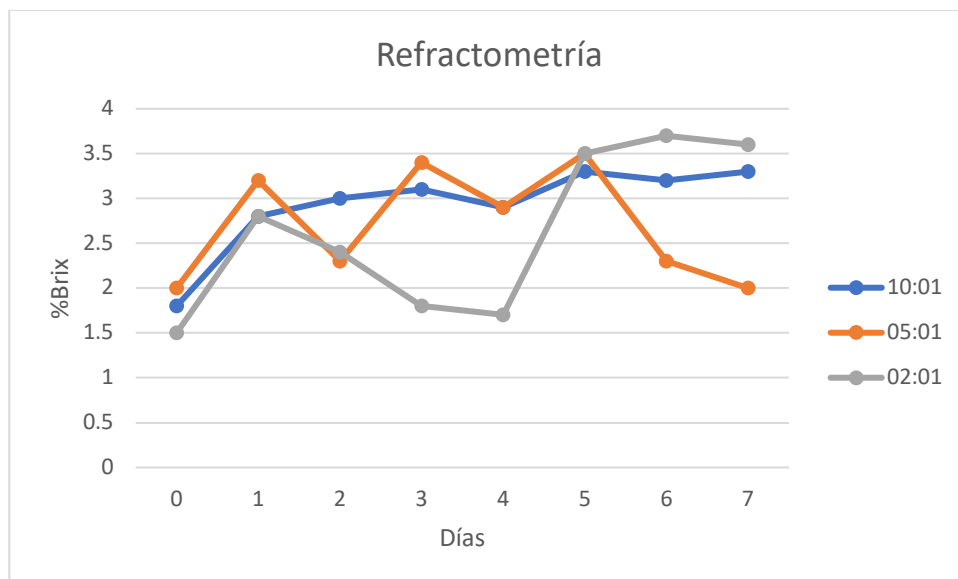


Figura 4. Comportamiento de la cinética de fermentación por medio de la refractometría de las síntesis 10:1, 5:1, 2:1 (granada:piña).

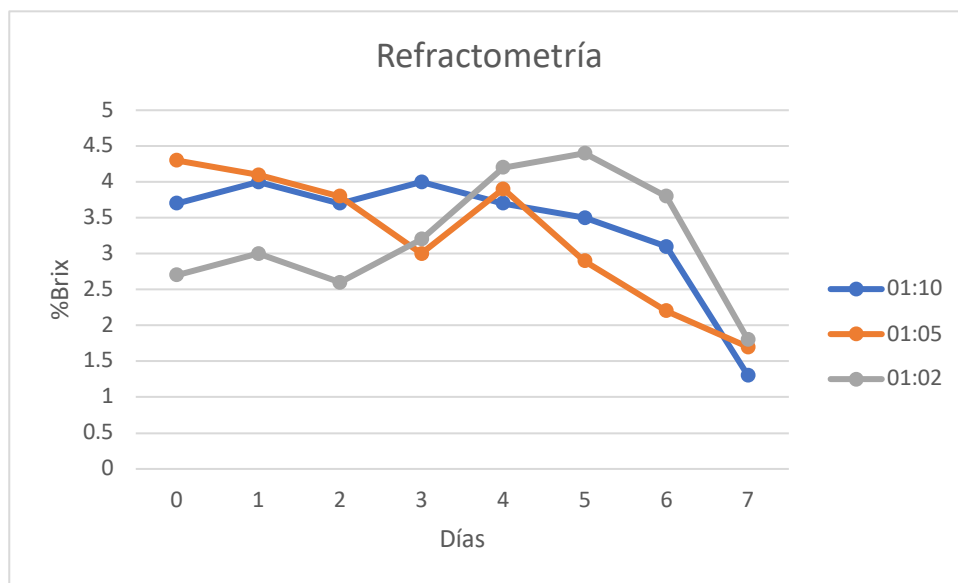


Figura 5. Comportamiento de la cinética de fermentación por medio de la refractometría de las síntesis 1:10, 1:5, 1:2 (granada:piña).

Caracterización de la cinética de fermentación por medio de azúcares reductores

Durante la caracterización de la cinética de la etapa fermentativa mediante la cuantificación de azúcares reductores por espectroscopía UV-Vis, se evaluaron seis proporciones a lo largo de siete días (Figura 6 y 7). De estas, las proporciones 1:5 y 5:1 mostraron un comportamiento favorable, evidenciando una disminución progresiva en las concentraciones de azúcares reductores conforme avanzaba el tiempo, lo que refleja claramente el consumo de sustrato durante el proceso fermentativo.

En la Figura 6 se puede observar que la proporción 5:1 comienza en el día cero en 160 mg/L aproximadamente, y en el día 7 de la fermentación termina en 110 mg/L. Por otro lado, en la Figura 7 la proporción 1:5 comienza en el día cero con 135 mg/L y finaliza con 45 mg/L. Lo anterior, muestra a las proporciones 1:5 y 5:1 como rutas de aprovechamiento con alto potencial hacia el ácido cítrico.

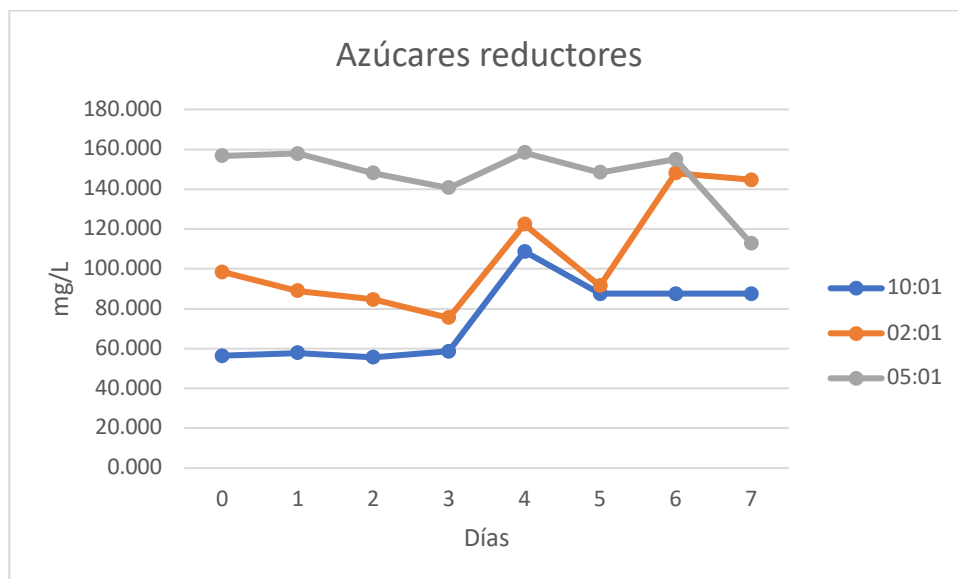


Figura 6. Comportamiento de la cinética de fermentación por medio de azúcares reductores de las síntesis 10:1, 2:1, 5:1 (granada:piña).

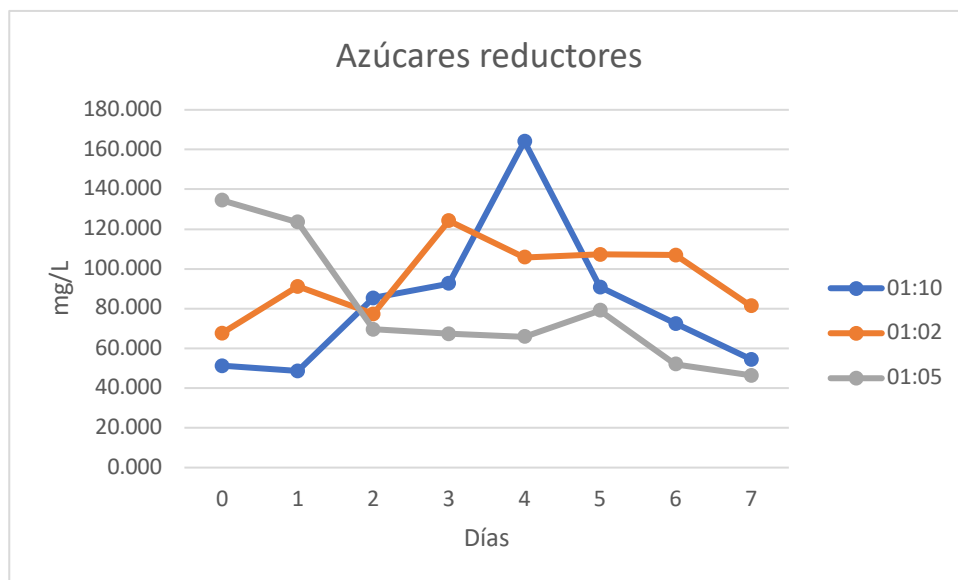


Figura 7. Comportamiento de la cinética de fermentación por medio de azúcares reductores de las síntesis 1:10, 1:2, 1:5 (granada:piña).

Curvas de titulación para la obtención del pH de equivalencia

Con base en lo reportado en trabajos previos para la titulación de ácido cítrico [11], se obtuvieron resultados comparables en la determinación del valor de pH de equivalencia para la muestra 1:5, la cual muestra un comportamiento interesante en la reducción favorable de azúcares. En la Tabla 1 se presentan los datos derivados de la titulación ácido-base de dicha proporción, utilizando NaOH 0.001 M como titulante y manteniendo un control preciso del volumen adicionado. El punto de equivalencia para las tres alícuotas está en el rango esperado para el pH de equivalencia del ácido cítrico. Además, los volúmenes de NaOH añadidos oscilan entre 12,8 y 13,6 ml, indicando una consistencia adecuada en la neutralización de las especies ácido-base presentes en la solución. En la Figura 8 se muestra la curva de titulación para las 3 alícuotas, donde se observa el comportamiento característico de un ácido tricarbónico como el ácido cítrico.

Tabla 1. curva de titulación

Muestra 1:5		
Alícuota	pH de equivalencia	Volumen en mL de NaOH 0.001 M adicionado
1	8.485	13.6
2	8.555	13.2
3	8.537	12.8

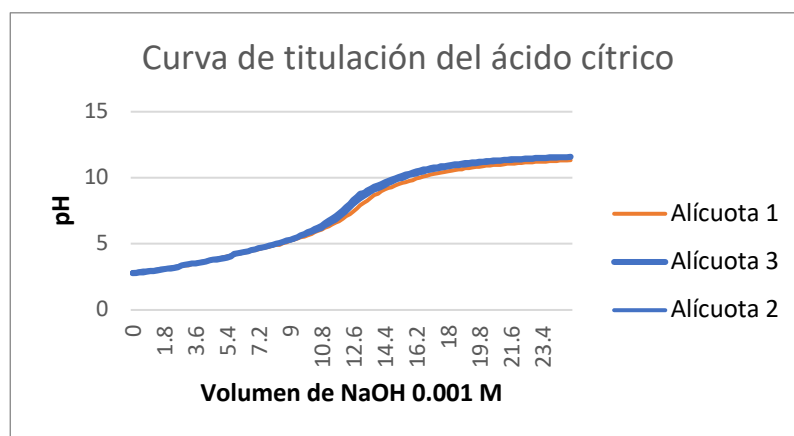


Figura 8. curva de titulación de ácido cítrico de la proporción 1:5.

Cuantificación del ácido cítrico por medio de espectroscopia UV-Vis

La cuantificación del ácido cítrico por el método espectroscopio UV-Vis se presentan en la Tabla 2, las muestras analizadas fueron posteriores al proceso de centrifugación (proporciones 1:10 y 10:1) y de purificación (5:1), dando valores de 2.02 gr/L, 1.45 gr/L y 1.12 gr/L, respectivamente. Lo anterior es indicativo de que, al purificar las muestras obtenidas posteriores al proceso de conversión, se tiene una disminución en la cantidad de ácido cítrico inicial, de aproximadamente el doble. Pero, esto es probablemente porque se trabajó con las proporciones 10:1 y 1:10. En comparación con los resultados reportados con el grupo de trabajo anterior, se obtuvieron cantidades similares de 2 gr/L de ácido cítrico, hasta el proceso de purificación.

Tabla 2. Cuantificación del ácido cítrico por medio de espectroscopia UV-Vis de distintas síntesis.

Muestra	(gr/L)
1:10	2.027215632
10:01	1.454989532
5:01	1.120027913

Conclusiones

Se lograron con éxito procesos para transformar residuos agroalimentarios en ácido cítrico como la fermentación con *Aspergillus niger* y purificación por precipitación con Ca(OH)_2 y H_2SO_4 . Los resultados muestran que las distintas proporciones de granada y piña afectarán la cinética fermentativa y el consumo de azúcares, siendo las mezclas con mayor proporción de piña (como 1:5) favorecidas debido a su mayor contenido de azúcares simples, mientras que las mezclas con más granada presentaron menor consumo de azúcares, probablemente por su contenido en ácidos, fenoles y taninos que limitan la actividad metabólica del hongo.

Posteriormente, la cantidad máxima de ácido cítrico obtenida fue superior a 2 gr/L antes de la purificación, cifra comparable con estudios previos realizados por el grupo de trabajo, y tras la purificación se obtuvo un contenido elevado aunque reducido por la pérdida de producto interno al proceso, alcanzando valores cercanos a 1.12 gr/L en la proporción 5:1. La caracterización por métodos colorimétricos y espectroscópicos confirmó la identidad y pureza del ácido cítrico cristalizado, y los datos de titulación correspondieron con los valores esperados para esta molécula.

El desarrollo del presente estudio demuestra la viabilidad de valorizar residuos de la agroindustria como materia prima para la obtención de ácidos orgánicos, resaltando no solo el aprovechamiento de estos residuos, sino también la contribución a la sostenibilidad mediante la reducción de desechos y la generación de productos de interés industrial. Asimismo, la evidencia obtenida permite visualizar la aplicación práctica de esta ruta de conversión en otros residuos disponibles a nivel regional, constituyendo una alternativa tecnológica para la economía circular y la producción más limpia.

Bibliografía/Referencias

- [1] Gómez-Castro, F. I., González-Guerra, G. M., Restrepo-Elorza, M. d. P., Montiel-Carrillo, A. P., Álvarez-Rivera, K. Y., Linares-Luna, R. G., & Hernández, S. (2022). Residuos de frutas y vegetales como materias primas para la producción de biocombustibles: Potencial en el estado de Guanajuato. *Digital Ciencia@UAQRO*, 15(1), 8–19. <https://doi.org/10.61820/dcuaq.%x.v15n1.697>
- [2] Secretaría de Agricultura. (2023). Qué hay detrás de la producción de granada. <https://www.gob.mx/agricultura>
- [3] Huchin Chan, J., Jiménez Pat, N. F., & Moo Xix, F. J. (2016). Diagnóstico de la producción de piña del municipio de Bacalar, Quintana Roo. En *El desarrollo regional frente al cambio ambiental global y la transición hacia la sustentabilidad*. Asociación Mexicana de Ciencias para el Desarrollo Regional.
- [4] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2024). Technical Platform on the Measurement and Reduction of Food Loss and Waste. <https://www.fao.org/platform-food-loss-waste/flw-data/en/>
- [5] Torres Villanueva, I., Nava Hernández, C. V., González Sánchez, A., Bárcenas Grangeno, M. d. C., González Guerra, G. M., & Gómez Castro, F. I. (2023). Producción de bioetanol y de ácido cítrico a partir de residuos de frutas y vegetales. *Jóvenes en la Ciencia*, 28, 1–10. <https://doi.org/10.15174/jc.2024.4285>
- [6] Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. *Applied Soil Ecology*, 123, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.028>
- [7] Yao, W.-b., Huang, L., Yang, Z.-h., & Zhao, F.-p. (2022). Effects of organic acids on heavy metal release or immobilization in contaminated soil. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 32(4), 1277–1289. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(22\)65841-7](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(22)65841-7)
- [8] Wang, Y., Huang, D., Ge, C., Wang, X., Zhu, C., Chen, N., Fang, G., & Zhou, D. (2023). Amendment of organic acids significantly enhanced hydroxyl radical production during oxygenation of paddy soils. *Journal of Hazardous Materials*, 457, 131799. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131799>
- [9] Latif, A., Hassan, N., Ali, H., Niazi, M. B. K., Jahan, Z., Ghuman, I. L., Hassan, F., & Saqib, A. (2025). An overview of key industrial product citric acid production by *Aspergillus niger* and its application. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 52, kuaf007. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuaf007>

- [10] Ávila-Montiel, M. C., Martínez-Mateo, Q. Y., García-Ortiz, M. A., Pérez-Pérez, R., & Gamero-Muñoz, L. A. (2019). Estudio de la variación de pKa del jugo de limón respecto al tiempo de maduración del fruto. *UNO Sapiens. Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 1*, 2(3), 39–41.
<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa1/issue/archive>
- [11] Marier, J. R., & Boulet, M. (1958). Direct determination of citric acid in milk with an improved pyridine-acetic anhydride method. *Journal of Dairy Science*, 41(12), 1683–1692.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)91038-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)91038-3)
- [12] Muñoz Fuérez, S. E. (2023). Obtención de ácido cítrico a partir de residuos de la agroindustria (Bagazo de caña) por acción del microorganismo *Aspergillus niger* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica del Norte]. Repositorio UTN. <https://repositorio.utn.edu.ec>