



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**



**EVALUACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA OBTENIDO POR
DIFERENTES MÉTODOS**

Autores:

DELGADO, Francisco

CI: 15497659

ORIA, Rosa

CI: 17844112

Valencia, julio de 2012



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
TRABAJO ESPECIAL DE GRADO



**EVALUACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA OBTENIDO POR
DIFERENTES MÉTODOS**
*PRESENTACIÓN DE TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PARA OPTAR A TÍTULO
DE INGENIERO QUÍMICO*

Autor Académico:

Prof. MSc. Carlos Alvarado Almarza

Autores:

DELGADO, Francisco

CI: 15497659

ORIA, Rosa

CI: 17844112

Valencia, julio de 2012.



AGRADECIMIENTO

- ◆ Ante todo a Dios, que nos lleno de fuerza para lograr nuestras metas.
- ◆ A nuestra queridísima alma mater, por acogernos a lo largo de nuestra carrera y brindarnos una formación tanto a nivel personal como profesional.
- ◆ Al personal administrativo y docente de la Escuela de Química de la Facultad de Ingeniería en especial a Mari, Trina y Leida, por ser siempre consecuentes y amables, para solventar los inconvenientes durante la realización y presentación de este trabajo especial de grado.
- ◆ A Ramón Escalona y al Sr. José (Pichón) por habernos dotado de la materia prima factor de mucha importancia para la realización de este trabajo especial de grado.
- ◆ Al personal que labora en el Centro de Investigaciones Químicas adscrito a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, por su colaboración prestada en el desarrollo de este trabajo.
- ◆ A nuestro tutor: Prof. MSc. Ing. Carlos Alvarado, que con su apoyo, su mística y dedicación nos orientó para la culminación del presente trabajo, además de siempre tener una palabra de aliento para brindarnos la serenidad y calma en los momentos más difíciles .
- ◆ A nuestra co-tutora: Dra. Germania Marquina-Chidsey, por su colaboración para realizar esta investigación.
- ◆ A Eliana Pérez, personal técnico del Laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad de Carabobo, por su ayuda en la elaboración de los análisis de cromatografía de gases con detección de masas.

Francisco Javier Delgado Hernández y Rosa Angélica Oria Fermín.



DEDICATORIA

Dedico el éxito y la satisfacción de esta investigación.

- *A Dios por regalarme el don de la Salud y la Sabiduría.*
- *A mis Padres **Roger Ernesto Oria** y **Yajaira Fermín**, quienes siempre han estado conmigo apoyándome dándome amor, alegría y ánimo.*
- *A mis Hermanas **Alejandra, Patricia y Mayela**, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.*
- *A mis Amigos de mi promoción de Bachillerato del Liceo Luis María Acuña en especial a (**Melvin, Shirley, Alexandra, Ronald, Alfredo**), que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos.*
- *A mi Novio **Juan Piñero** Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.*
- *A mi amigo y compañero de tesis **Francisco Delgado**, por su apoyo, colaboración y paciencia, lo que nos permitió culminar con éxito nuestra tesis.*
- *A **Deisy Pérez**, por su apoyo incondicional y sus palabras de aliento en los momentos donde me sentía sin fuerzas.*
- *A la familia **Delgado Hernández** por su colaboración, empeño y sudor en la elaboración de este trabajo desde su natal Villa de Cura.*
- *A mis amigos y compañeros de la **Universidad de Carabobo** y en especial a la **Facultad de Ingeniería y su Escuela de Química** por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.*
- *Y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.*

Rosa Angélica Oria Fermín.



DEDICATORIA

- *A Dios por regalarme el don de la Salud y la Sabiduría.*
- *A mis Padres **Francisco Delgado** y **Georgina Hernández**, quienes siempre han estado conmigo apoyándome dándome amor, alegría y ánimo.*
- *A mis Hermanos **Verónica** y **Jorge Luis** por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.*
- *A mis Amigos de mi promoción de Bachillerato de la **U.E Niños Cantores de Villa de Cura** en especial a (**José Ramón, Cesar, Alessandro, Manuel y John**), que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos.*
- *A mi Novia **Mariangelica Ojeda** por su amor y apoyo incondicional en todo momento y ser esa persona que me alienta a luchar por lograr mis metas.*
- *A mi amiga y compañera de tesis **Rosa Oria**, por su apoyo, colaboración y paciencia, lo que nos permitió culminar con éxito nuestra tesis.*
- *A la familia **Oria Fermín** por su colaboración, empeño y sudor en la elaboración de este trabajo.*
- *A mis amigos y compañeros de la **Universidad (Alberto, Nelson, Cesar, Deisy, Isamar)** por su colaboración y permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.*
- *Y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.*

Francisco Javier Delgado Hernández.



RESUMEN

Mediante la aplicación de dos métodos de extracción, arrastre por vapor y dióxido de carbono como fluido supercrítico, se realizó la caracterización del aceite esencial de la cascara del limón Eureka. Mediante la técnica de cromatografía de gases con detección de Masa (GSM), se determinaron los componentes del aceite esencial, encontrándose 3 componentes mayoritarios: D-limoneno (44,08%), anisole (8,50%) y α -terpineno (9,71%). El rendimiento obtenido del aceite esencial fue de 0,562%, y se interpretó por medio de un diseño factorial con superficie de respuesta. Los componentes del aceite esencial extraído fueron comparados con otras variedades de limón obtenidos a través de diversos artículos científicos, a pesar de la data antigua de alguno de ellos, estos aportaron suficiente información relevante a los componentes del aceite esencial de las variedades de limón. Demostrando que el limón Eureka tiene algunos componentes como el citronellol, β -terpineno y anisole, que son usados como: antisépticos, antivíricos, y que no tienen las otras variedades de limón.

Palabras Clave: limón Eureka, rendimiento, cromatógrafo de gases, extracción.

ABSTRACT

Through applying two extraction methods, steam distillation and carbon dioxide as supercritical fluid, was performed to characterize the essential oil of lemon peel Eureka. By the technique of gas chromatography with mass detection (GSM), were determined essential oil components, being three major components: D-limonene (44.08%), anisole (8.50%) and α -terpinene (9.71%). The obtained performance of essential oil was 0.562%, and it was interpreted by a factorial design with response surface. The components of essential oil were compared with other lemon varieties obtained through various scientific articles, despite the old data from some of them; they provided enough relevant information to the components of the essential oil of lemon varieties. Proving that the Eureka lemon has some components such as citronellol, β -terpinene and anisole, which are used as antiseptics, antivirals, and which do not possess the other varieties of lemon.

Keywords: Eureka lemon, performance, gas chromatography, extraction.



ÍNDICE GENERAL

	Pág
Introducción	1
Capítulo I. Planteamiento del Problema	3
1.1. Descripción del problema.....	3
1.2. Formulación del problema.....	5
1.2.1. Situación actual.....	5
1.2.2. Situación deseada	6
1.3. Objetivos	
1.3.1. Objetivo general.....	6
1.3.2. Objetivos específicos.....	6
1.4. Justificación.....	7
1.5. Limitaciones.....	8
Capítulo II. Marco Teórico	9
2.1. Antecedentes.....	9
2.2. Fundamentos Teóricos.....	24
2.2.1. Cultivo del limón (Eureka).....	24
2.2.2 Taxonomía y morfología.....	24
2.2.3 Aceites esenciales	26
2.2.4 Reseña histórica.....	27
2.2.5 Aplicación de los aceites esenciales.....	28
2.2.6 Métodos de análisis y control de los aceites esenciales.....	29
2.2.7 Clasificación de los aceites esenciales.....	30
2.2.8 Aceite esencial de limón.....	31
2.2.9 Método de obtención de aceite esencial.....	34
Capítulo III. Marco Metodológico	42
3.1. Diseño de la Investigación.....	42
3.2. Lugar de la Investigación.....	42
3.3. Materiales y Equipos.....	43
3.3.1.Materia Prima.....	43



3.3.2. Equipos de Extracción.....	43
3.4. Desarrollo de la Investigación.....	46
3.4.1. Evaluación de las condiciones de operación para la extracción del aceite esencial del limón Eureka mediante arrastre por vapor y fluido supercrítico.....	46
3.4.1.1. Selección de la Materia Prima.....	46
3.4.1.2. Selección del diseño experimental para la extracción del aceite esencial del limón eureka por fluido supercrítico y arrastre por vapor.....	46
3.4.1.3. Procedimiento para la extracción del aceite esencial del limón eureka mediante fluido supercrítico y arrastre por vapor.....	49
3.4.2. Selección de las mejores condiciones de operación mediante métodos estadísticos.....	53
3.4.3. Extracción del aceite esencial del limón Eureka mediante arrastre por vapor y fluido supercrítico.....	56
3.4.4. Identificación mediante cromatografía de gas.....	56
3.4.5. Comparación de las características del aceite esencial extraído con otras variedades del limón.....	57
Capítulo IV. Discusiones y resultados	58
4.1. Evaluar las condiciones de operación para la extracción del aceite esencial del limón Eureka	58
4.2. Seleccionar las mejores condiciones de operación mediante métodos estadísticos.....	68
4.3. Extraer el aceite esencial del limón Eureka mediante arrastre por vapor y fluido supercrítico.....	72
4.4. Identificar mediante cromatografía de gas con detector de masa el mayor número posible de componentes de la fracción más volátil del aceite esencia.....	75



4.5. Comparar las características del aceite esencial extraído con las otras variedades del limón	80
Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones	87
Conclusiones.....	87
Recomendaciones.....	88
Referencias Bibliográficas	89
Apéndice A.....	97
Apéndice B.....	101
Apéndice C.....	121



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2.1. Limón Eureka.....	25
Figura 2.2. Principales aplicaciones de los aceites esenciales.....	29
Figura 2.3. Parámetros analíticos empleados para establecer la calidad de los aceites esenciales.....	30
Figura 2.4. Compuestos característicos del aceite esencial del limón.....	32
Figura 2.5. Producción mundial de limón Eureka en el 2008.....	33
Figura 2.6. Importación mundial de limón Eureka en el 2007.....	33
Figura 2.7. Exportación mundial de limón Eureka en el 2007.....	33
Figura 2.8. Superficie PVT de una sustancia puros.....	35
Figura 2.9. Diagrama teórico de fases de compuestos puros.....	36
Figura 2.10. Unidad de extracción de aceites de nueces.....	39
Figura 3.1. Equipo de fluido supercrítico.....	43
Figura 3.2. Equipo de arrastre por vapor.....	45
Figura 3.3. Diagrama del equipo de extracción fluido supercrítico.....	51
Figura 3.4. Diagrama del equipo de arrastre por vapor.....	53
Figura 4.1. Diagrama de Pareto estandarizado para el % de rendimiento para arrastre por vapor.....	64
Figura 4.2. Gráfico de los efectos principales para él % de rendimiento para arrastre por vapor.....	64
Figura 4.3. Gráfico de las interacciones entre las variables para % de rendimiento para arrastre por vapor.....	65
Figura 4.4. Diagrama de Pareto estandarizado para él % de rendimiento para fluido supercrítico.....	66
Figura 4.5. Gráfico de los efectos principales para él % de rendimiento para fluido supercrítico.....	66



Figura 4.6.	Gráfico de las interacciones entre las variables para % de Rendimiento para fluido supercrítico.....	67
Figura 4.7.	Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción por arrastre por vapor recomendada por statgraphic plus.....	69
Figura 4.8.	Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción supercrítica	71
Figura 4.9.	Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva por arrastre por vapor.....	74
Figura 4.10.	Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva por fluido supercrítico.....	74
Figura 4.11.	Cromatograma del limón Eureka.....	76
Figura 4.12.	Limoncello.....	86



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 2.1. Taxonomía del limón eureka.....	24
TABLA 2.2. Valores críticos de algunos fluidos.....	36
TABLA 2.3. Propiedades físicas medias de gases, fluidos supercríticos y líquidos.....	37
TABLA 3.1. Rangos de operación establecidos para el diseño experimental 2^3 arrastre por vapor.....	48
TABLA 3.2. Rangos de operación establecidos para el diseño experimental 2^3 mediante fluido supercrítico.....	49
TABLA 4.1. Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para arrastre por vapor.....	59
TABLA 4.2. Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para fluido supercrítico.....	60
TABLA 4.3. Resultados del análisis de varianza en porcentaje de rendimiento para arrastre por vapor.....	61
TABLA 4.4. Resultados del análisis de varianza en porcentaje de rendimiento para fluido supercrítico	62
TABLA 4.5. Desarrollo experimental para la elaboración de la superficie de respuesta	70
TABLA 4.6. Resultados de la corrida exhaustiva de arrastre por vapor....	72
TABLA 4.7. Resultados de la corrida exhaustiva de fluido supercrítico...	73
TABLA 4.8. Resultados de la cromatografía para la identificación los componentes del aceite esencial de limón.....	77
TABLA 4.9. Matriz comparativa del limón Eureka con las otras variedades de limón.....	80



INTRODUCCIÓN

La historia de los aceites esenciales es tan antigua como la historia de la civilización. Los aceites esenciales, han sido estudiados en casi todas las civilizaciones antiguas que se conocen de la raza humana, son de hecho la más antigua forma de medicina conocida por el hombre, además de ser responsable del sabor y olor de la mayoría de los alimentos. Estos compuestos aromáticos se encuentran en algunas plantas y frutas.

Las esencias entran en relación con el hombre a través de dos vías de absorción, el olfato y la piel, penetrando en el organismo e influyendo en la mente y el cuerpo. Estas sustancias aromáticas, unidas con nuestro sentido del olfato, envían información al cerebro ejerciendo su acción en el ánimo, la memoria y en la capacidad de aprendizaje, así mismo en contacto con la piel producen un efecto favorable en las células y los tejidos. (Olaya y Méndez, 2003).

El aceite esencial es una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas. Se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor. Es uno de los ingredientes básicos en la industria de los perfumes, alimenticia y en medicina, es por ello que son de gran interés en el área de investigación y desarrollo (Ortuño, 2003).

Los cítricos son plantas de hoja perenne, se les da el nombre de cítricos a todas las especies de los géneros citrus, fortunella y poncirus, de estos tres géneros los cítricos son los más estudiados y cultivados mundialmente, debido a que estos frutales pueden cultivarse en casi todas las regiones del mundo donde las condiciones climáticas lo permitan, principalmente en zonas tropicales y subtropicales (Baraona y Sancho, 1991).

Así mismo los cítricos ocupan el primer lugar de la producción de frutos a nivel mundial, con una cosecha para el período 1993/94 de alrededor de 72.10^6 t, representando las limas y limones 10% (F.A.O, 1994). El comercio de los frutos



frescos de estas especies es dominado por España (41%), seguido por los Estados Unidos de Norteamérica (14%), participando Venezuela con una pequeña escala (Larosa, 1992).

El limón, es un fruto de sabor ácido, sin embargo posee tantas propiedades que este pequeño defecto, se transforma en una virtud luego de conocer las ventajas nutritivas y curativas que nos otorga, ocupa el primer lugar dentro los frutos curativos, preventivos y de aporte vitamínico, transformándolo en un gran eliminador de toxinas y un poderoso bactericida (Morín,1980).

Este trabajo de investigación tiene como objetivo realizar la extracción del aceite esencial de una de las variedades de limón que encuentran en Venezuela, como lo es el **Limón Eureka**, el cual es utilizado para ser injertos con otras variedades de limón en el Estado Aragua.

Las fases de la investigación fueron, en primer lugar se realizó la extracción del aceite esencial de limón Eureka con arrastre por vapor y dióxido de carbono CO₂ como fluido supercrítico, con la finalidad de evaluar las condiciones de operación durante el proceso utilizando un diseño experimental, seguidamente se seleccionaron las mejores condiciones de operación mediante métodos estadísticos, posteriormente se extrajo el aceite esencial del limón Eureka con las mejores condiciones obtenidas anteriormente mediante arrastre por vapor y fluido supercrítico, luego se identificaron mediante cromatografía de gas con detector de masa el mayor número posible de componentes de la fracción más volátil del aceite esencial y finalmente se realizó la comparación de las características del aceite esencial extraído con las otras variedades del limón obtenida a través de trabajos de investigación anteriores con miras a utilizarlo en la fabricación de productos químicos y alimenticios (Cerpa, 2007).



CAPÍTULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En esta sección se muestra de forma específica la formulación del problema, los elementos que justifican y limitan la investigación, la situación actual y deseada así como el objetivo general y los específicos que se desean alcanzar.

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Los aceites esenciales son sustancias volátiles, no solubles en agua obtenidas por un proceso físico a partir de material vegetal oloroso de un solo género botánico, en su mayoría líquidos muy concentrados. Estos se extraen de distintas partes de las plantas como son: pétalos, hojas, semillas, núcleo de la nuez, piel y parte superior de las flores (Ortuño 2006).

Los aceites esenciales generalmente son complejas mezclas de más de cien componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos) y fenil propanoides. Pueden ser líquidos, la mayoría incoloros a excepción de los aceites esenciales extraídos de cítricos, los hay muy viscosos o semisólidos (denominados balsamos) u oleorresinas (Ortuño, 2006).

De los 4000 aceites esenciales conocidos la mayoría proviene de plantas aromáticas, que son las que concentran mayor cantidad de esencia y por tanto constituyen la materia prima para su obtención. Estas sustancias son de gran utilidad en la industria alimentaria (condimentos, saborizante y aromatizantes), farmacéutica (saborizantes), cosmética (aromatizantes y para uso terapéutico).

El mercado mundial de los aceites esenciales, en crecimiento constante, genera una continua renovación de la tecnología empleada para obtener estos productos. A su vez, incentiva la optimización de los equipos usados diariamente, para aumentar su rentabilidad y eficiencia. El proceso para obtener los aceites



esenciales, usado desde la antigüedad hasta el presente, ha demostrado su cualidad de ser amigo del medio ambiente, gracias al mínimo impacto generado a contribuir a cerrar el ciclo de producción-consumo de materiales renovables en nuestro planeta y por el uso del agua, como insumo del proceso. Además, al requerir materias primas renovables, contribuye al desarrollo sostenible de zonas con un menor nivel de industrialización pero con alta disponibilidad de su mano de obra y una gran biodiversidad del material vegetal, el cual favorece a un mayor crecimiento económico (Cerpa, 2007).

Esta variedad de limón se da en los valles altos de Carabobo a 850 m.s.n.m. y temperaturas promedios de 22,3°C, en árboles injertados sobre Volkameriana, determinó un elevado crecimiento de la copa y baja acidez, en comparación al observado en las variedades Tahití, Criollo y Criollo sin espina. Los niveles de producción fueron de 668 frutos y 87,5 kg por planta, que representaron 23,34 t/ha para una población de 319 árboles/ha (Sosa *et al.*, 1992).

Según la FAO (Organización para las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentación) uno de los aceites esenciales más usados en el mundo es el de origen cítrico (limón, naranja, lima, etc.), ya que tiene gran aplicación y consumo en la industria alimenticia como saborizante en su mayor consumo. En este sentido, el contenido de aceite esencial de los cítricos en especial del limón depende, entre otros factores, de la variedad, condiciones de cultivo, incidencias climatológicas, tamaño del fruto, grado de madurez, época de cosecha. (Sepúlveda y Sáenz, 1984; Braddock y Cadwallader, 1992; Usai *et al.*, 1996) y su valoración de calidad se basa, preferentemente, en su aroma característico y en la intensidad de su color (Reyes y Yamada, 1985).

Para la extracción de los aceites esenciales se utilizan diversos métodos entre los cuales se encuentran: la extracción por arrastre con vapor (se basa en la evaporación de los componentes volátiles de la materia prima) y extracción con fluidos supercríticos (se basa en la propiedad que tienen ciertos fluidos en estado



supercríticos de modificar su poder disolvente), que serán los métodos utilizados en esta investigación.

Este trabajo de investigación tendrá como propósito la caracterización del aceite esencial del limón Eureka, siendo esta una variedad que se encuentra en Venezuela, así mismo incentive al desarrollo de nuevas investigaciones acerca de la extracción de aceites esenciales generando el aumento de la producción de estos en nuestro país.

1.2 Formulación del problema

Los aceites esenciales más estudiados fisicoquímica, organoléptica y económicamente son los de origen cítrico, ya que son los de mayor productividad agrícola como lo es: la naranja, limón, etc. En este sentido, el presente estudio se orienta a realizar la extracción y caracterización del aceite esencial de la piel del limón Eureka, ya que no existe un antecedente nacional del estudio de la extracción del aceite esencial de esta variedad de limón. Es por ello que se plantea la siguiente interrogante, ¿Existe en Venezuela una referencia de investigación que de importancia a la composición fisicoquímica al aceite esencial extraído de la especie cítrica del limón Eureka y comúnmente conocida como Limón Chinotto?

1.2.1 Situación actual

En Venezuela se han hecho estudios de variedades de limón como el criollo y el persa pero en el caso del limón Eureka no se han hecho estudios acerca de su aceite esencial lo cual da motivos a este trabajo de investigación, debido a la importancia de los aceites esenciales.

Es importante resaltar que en nuestro país se importa la mayoría de los aceites esenciales para la industria farmacéutica, alimentaria y cosméticos debido a que no se aprovecha el subproducto de los cítricos solo se destinan para alimento animal, además los estudios realizados para la extracción de aceites esenciales del limón son basados en el limón criollo y persa, es decir, que se estaría



innovando en el campo de estudio del aprovechamiento del limón Eureka, aun cuando es importante resaltar que la producción de este limón es menor en comparación con las otras variedades de limón, debido a que su planta es de poca longevidad.

1.2.2 Situación deseada

Mediante la extracción y caracterización del aceite esencial de la piel del limón Eureka, obtener una referencia de investigación en Venezuela que de importancia a la composición fisicoquímica del mismo.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el aceite esencial de la piel del limón Eureka, obtenido por diferentes métodos de extracción.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Evaluar las condiciones de operación utilizando un diseño experimental para llevar a cabo la extracción del aceite esencial por el método de fluido supercrítico y arrastre por vapor.
2. Seleccionar las mejores condiciones de operación mediante métodos estadísticos.
3. Extraer el aceite esencial del limón Eureka mediante arrastre por vapor y fluido supercrítico.
4. Identificar mediante cromatografía de gas con detector de masa el mayor número posible de componentes de la fracción más volátil del aceite esencial.
5. Comparar las características del aceite esencial extraído con las otras variedades del limón obtenida a través de trabajos de investigación anteriores con miras a utilizarlo en la fabricación de productos químicos y alimenticios.



1.4 JUSTIFICACIÓN

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética, de alimentos y farmacéuticas. Entre los mayores productores de aceites esenciales se encuentran Argentina, Estados Unidos e Italia; otros productores de menor importancia son Brasil, Costa de Marfil, Grecia, España, Israel, Australia, Perú, Guinea, Indonesia, Venezuela y Chile.

En este sentido, el proceso de extracción de los aceites esenciales es de vital importancia, debido a que nos da un amplio conocimiento de las características de las plantas frutales que se encuentra en el país y su aplicación en diversos campos en la industria y para este trabajo especial de grado realizar la extracción del aceite esencial del limón Eureka que sería algo innovador y que podría traer muchos beneficios a la industria de aceites esenciales.

En la industria es necesario que el ingeniero químico maximice el rendimiento de los procesos utilizando los métodos más factibles y que generen menor costo. Esta investigación nos da un conocimiento amplio acerca de los diversos métodos de extracción y la eficacia de cada uno de ellos.

En otro orden de ideas este trabajo especial de grado busca incentivar al estudiante, creando la expectativa de explorar situaciones en otras áreas, como parte de su formación integral y de manera simultánea reforzar conocimientos y habilidades adquiridas durante la carrera universitaria, entregando una experiencia en el ámbito laboral.

Además se puede demostrar que la extracción de aceites esenciales es un proceso con tecnologías que no generan un impacto negativo en el medio ambiente.



1.5 LIMITACIONES

Durante la realización de la investigación se presentan diversos inconvenientes y dificultades que pueden demorar el desarrollo y cumplimiento de los objetivos planteados, de tal modo se muestran algunas de las limitaciones.

- ✓ Existen pocos estados que producen el limón Eureka en Venezuela y generalmente la mayor producción de limón Eureka solo se da en el mes de mayo.
- ✓ El método de fluido supercrítico es una metodología mucho más eficiente pero poco usada en Venezuela.
- ✓ Costos que se podrían generar por los repuestos que llegase a necesitar el equipo solo se encuentran en el exterior.



CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

En esta sección se presenta los antecedentes que fundamentan la investigación, definiendo claramente lo referente al trabajo de investigación.

II.ANTECEDENTES

Albaladejo (1999) realizó un estudio orientado hacia la puesta al día del conocimiento del aceite esencial y la consiguiente aportación de datos a una posible propuesta de normalización del aceite esencial de limón (*Citrus limon* (Linneo) N.L. Burman) producido en España, debido a el aumento de su comercialización y las variaciones producidas en las dos últimas décadas, tanto por la diversidad de las condiciones agrobiológicas de desarrollo de los limones como por los cambios tecnológicos en la elaboración del propio aceite esencial. Realizaron el estudio de las características organolépticas de muestras de aceite esencial del limón español, Estudio de las características físico-químicas del aceite esencial del limón producido en España mediante: índice de refracción, rotación óptica, peso específico, índice de carbonilo, solubilidad en etanol y residuo seco, Análisis mediante espectrofotometría de ultravioleta, para la obtención del espectro característico y el valor del índice CD y Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas, para la identificación del mayor número posible de componentes de la fracción volátil del aceite esencial.

El aporte a este trabajo de investigación fue la extracción del aceite esencial del limón y su caracterización del mismo. La diferencia fue que en esta tesis doctoral realizaron muchos más análisis para la caracterización del aceite esencial de este limón y también que la variedad de limón es distinta a la que se está estudiando en este trabajo de investigación.



Ademas, Rozzi *et al.* (2001) extrajeron de cuatro variedades diferentes plantas aromáticas de limón utilizando extracción con fluidos supercríticos y con hidrodestilación. Las plantas utilizados fueron: limón de eucalipto (*Eucalyptuscitriodora*), toronjil (*Melissaofficinalis*), Limón bergamota (*Monardacitriodora*), y el limoncillo (*Cymbopogoncitratu*s). Los extractos de las plantas fueron analizados utilizando cromatografía de gases. Los compuestos identificados para cada especie de planta fueron: toronjil (citronela, neral, geranial, acetato neral, cariofileno, óxido de cariofileno), el limón bergamota (timol, timol éster metílico, y un terpeno), limón de eucalipto (citronela, neral, cariofileno, óxido de cariofileno) y limoncillo (neral, geranial y cariofileno).

Las extracciones por fluido supercrítico se realizaron a tres diferentes presiones y dos temperaturas de extracción 40 y 60°C. Los resultados indicaron que el porcentaje de masa extraída aumentó con la temperatura y presión, así como la relación de los compuestos en las distintas muestras. El efecto de la reducción de tamaño de partículas en el rendimiento de extracción también fue investigado. El rendimiento de la extracción no aumentó debido al incremento de la superficie, como era de esperar, pero disminuyó. Esto se ha atribuido al hecho de que los compuestos de interés son muy volátiles y se pierde en la atmósfera durante el proceso de molienda.

Los compuestos de citral se puede extraer del toronjil, limón bergamota, limón de eucalipto, y limoncillo con SFE es más eficiente y más rápido que con hidrodestilación. Este indica que el SFE puede ser mejor aplicado a análisis con estas plantas en lugar de las fuentes de producción de aceite esencial de alguna de las plantas. Encontraron que a medida que al aumentar la temperatura, presión, volumen de CO₂, y en menor medida, el caudal aumentó la fracción de masa extrae de cada planta. En el análisis estadístico mostraron que la densidad del CO₂ utilizado para la extracción tuvo un efecto significativo (P>95%) sobre la composición del extracto que se analiza en función de la persona citral compuestos contenidos en cada muestra.



El aporte al trabajo en desarrollo fue la utilización de la extracción con fluido supercrítico para la extracción del aceite esencial del limón. La diferencia fue que en este trabajo se utilizara además el método de arrastre por vapor y utilizando solvente extractor para la extracción del mismo.

Seguidamente, Ribeiro *et al.* (2001) orientaron su estudio a la determinación del método más adecuado para la obtención de aceite esencial de jengibre, así como a la identificación de los componentes del aceite esencial. En forma adicional se realizaron pruebas para determinar si el aceite obtenido puede ejercer alguna acción antimicrobiana. Se encontró que las características físico-químicas del rizoma están dentro del rango reportado en la literatura (85% de humedad, 4.5% de grasa, 1.25% de cenizas, 2.12% de proteínas) sobre esta especie colectada en otras latitudes. En cuanto al aceite esencial, se encontró que el mejor método de extracción se realiza por arrastre de vapor, siendo necesario realizar un secado previo de la materia prima, así como una molienda adecuada. La separación final del aceite esencial se realizó por decantación y luego por congelación, obteniéndose un rendimiento de 0.8% del peso del material seco. Las características físicas del aceite esencial son: índice de refracción 1.49, densidad 0.877 y soluble en etanol de 96°. El análisis del aceite por CG y EM, mostró una mayor presencia de sesquiterpenos, siendo que los principales componentes son el zingibereno (22.2%) y el α -curcumeno (13.3%). La evaluación sensorial muestra un aceite con las características adecuadas, y la prueba de sensibilidad biológica indica que es activo ante el *Bacillus cereus*, y medianamente activo contra el *Staphylococcus aureus* y *S. faecalis*.

El aporte al trabajo en desarrollo fue la extracción del aceite esencial por arrastre por vapor y caracterización de los componentes del mismo. La diferencia fue que la materia prima es el jengibre.

No obstante, Ricci *et al.* (2002) evaluaron el efecto repelente de los aceites esenciales de laurel (*Laurus nobilis* L.) y de lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.), sobre *Brevi-coryne brassicae* en plantas de repollo



(*Brassicaolerácea L. var. capitata*). Los aceites esenciales de laurel y lemongrass fueron extraídos de hojas sometidas a destilación por arrastre con vapor de agua. La identificación de los principales componentes de las esencias se realizó por cromatografía en fase gaseosa. Los tratamientos se realizaron por pulverización directa sobre plantas de repollo. El aceite esencial de laurel se formuló en solución acuosa empleando como emulsionante 2% de INSOL (oleato de propilenglicol) y las concentraciones ensayadas fueron 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3%, efectuándose cinco repeticiones y un testigo en blanco. Para el aceite esencial de lemongrass se utilizó como emulsionante lecitina de soja al 0.5% y las concentraciones utilizadas fueron 0.5, 1, 2, 3,4% y el testigo correspondiente. Luego de la aplicación se realizaron los recuentos de los pulgones presentes en cada planta a las 6 y 24 horas, expresados en porcentaje de repelencia. Para el análisis estadístico se utilizó un ANOVA de dos vías y Test de Tukey ($\alpha=0.05$). Los valores máximos de repelencia obtenidos para ambas esencias oscilaron entre 72 y 90%; para *L. nobilis* se logró a las 6 h de la aplicación con concentraciones del 2%, mientras que para *C. citratus* se alcanzó a las 24 h con concentraciones del 3%.

El aporte al trabajo de investigación fue la extracción de aceite esencial por medio de arrastre por vapor, la caracterización realizando una Cromatografía de Gases y la realización de un análisis de varianza ANOVA. La diferencia es que trabajaron para la realización de un producto (insecticida) y la materia prima no era limón.

Posteriormente, Cano *et al.* (2002) realizaron un estudio sobre la obtención de la oleorresina y aceite esencial a nivel de planta piloto de pimienta negra (*Pipernigrum L.*) cultivada en Guatemala, evaluando el rendimiento obtenido mediante el proceso de destilación atmosférica por arrastre con vapor para obtener el aceite esencial, evaluando el rendimiento en función del factor tamaño de lote; y como proceso consecutivo la extracción de oleorresina por maceración con solvente alcohólico, evaluando el rendimiento en función de dos factores: tamaño de lote y concentración del solvente para 3 diferentes tiempos de maceración. Además se realizó una evaluación de las propiedades fisicoquímicas de ambos extractos, así como cromatografía



gaseosa (CG) al aceite esencial para cuantificar los componentes del mismo, encontrándose 2 componentes mayoritarios: canfeno y mirceno. Se realizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) a las muestras de oleorresina para cuantificar la piperina, la cual es el principio activo y determina la calidad del aceite esencial y oleorresina respectivamente. Los resultados obtenidos de porcentaje de rendimiento de aceite esencial se interpretaron por medio de un análisis de varianza, llegando a concluir que: el factor tamaño de lote influye en el porcentaje de rendimiento de aceite esencial, obteniendo un porcentaje medio de 0.802%. Asimismo se realizó el análisis de varianza para los porcentajes de rendimiento de oleorresina, llegando a concluir que: los dos factores estudiados: tamaño de lote y concentración de solvente influyen significativamente en el rendimiento de oleorresina obtenido, el cual fue un valor promedio de 5.57, siendo el lote de 10 libras y el etanol al 70% los niveles más favorables para obtener el más alto rendimiento porcentual de oleorresina a nivel planta piloto con pimienta negra molida de 15% de humedad, el valor reportado por Farell(1975) es de 6%, para pimienta negra cultivada en otros países. Fueron determinadas las propiedades fisicoquímicas de los extractos, densidad e índice de refracción, con lo que se completó la información que se deseaba obtener en la investigación. El porcentaje Promedio de piperina contenida en la oleorresina fue de 56.48, valor que se encuentra dentro del rango reportado por Farell(1975) que es de 53 – 57 %.

El aporte al trabajo de investigación fue la extracción de aceite esencial por arrastre con vapor y la realización de un análisis de varianza para determinar las variables más influyentes en el proceso. La diferencia fue que la materia prima es la pimienta negra.

Así mismo, Olaeta *et al.* (2002) estudiaron la evolución de los compuestos citraly limoneno en el aceite esencial de limón (*Citrus limón(L.) Burm.*) en las variedades Eureka y Génova. Se efectuaron 10 muestreos a intervalos de una semana desde marzo a junio de 1999, eligiendo cuatro frutos al azar, en cada evaluación, por cada variedad. El aceite esencial obtenido se extrajo



utilizando el método de prensado en frío del serrín del flavedo, el que se congeló para luego ser inyectado en un cromatógrafo de gases HP 5890 serie II equipado con un detector FID. Se determinó que las variedades Eureka y Génovano presentaron diferencias en los porcentajes de citral y limoneno obtenidos en el aceite esencial de los frutos, aumentando sus niveles a medida que aumentó el grado de madurez de los frutos. Se determinó también que el limoneno es el compuesto más importante en el aceite esencial de estas variedades, alcanzando valores promedios aproximados de 33 % y el citral alcanzó valores de 1,6%.

El aporte al trabajo en desarrollo fue la extracción del aceite esencial del limón Eureka. La diferencia fue el método de extracción utilizado que fue prensado al frío y que trabajaron con otra variedad de limón que es el Génova.

De igual forma, Chávez y Rivas (2003) desarrollaron un repelente para insectos a base de aceite esencial de limón, el cual constituye una alternativa frente a los repelentes sintéticos existentes en el mercado, que no dañe el ambiente ni cause dificultades a la salud. El repelente se formuló para dos concentraciones de aceite esencial de limón siendo elaborado en la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. Para certificar la calidad del repelente se le practicaron pruebas dermatológicas microbiológicas. Las dos concentraciones fueron probadas con voluntarios en la población de Ortiz, Estado Guárico; escogiendo la de mayor acción repelente. Finalmente se realizó un estudio para investigar el mercadeo de los repelentes existentes en Venezuela.

El aporte al trabajo en desarrollo es la extracción de aceite esencial de limón. La diferencia es que en este trabajo se hará la extracción y caracterización del aceite esencial para fines investigativos y comparar con los aceites esenciales de las otras variedades de limón (limón persa y criollo).

De manera semejante, Cerutti y Neumayer (2004) realizaron un estudio acerca del aceite esencial del limón, de cómo esta mezcla compleja de sustancias proporcionan sabor y olor a innumerables alimentos, aunque también son usados



en la industria cosmética, señalando a Argentina como uno de los mayores productores de aceite esencial de limón en el mundo. De igual manera mencionan los principales métodos de obtención de aceite esencial de limón y sus fundamentos.

El aporte al trabajo en desarrollo fue la extracción del aceite esencial del limón. La diferencia fue que no hablan de otros métodos de extracción y procesos posteriores a la extracción para tener el producto final.

En otro orden de ideas, Franceschi *et al.* (2004) analizaron el comportamiento de las fases de los aceites de limón y bergamota en CO₂ supercrítico. El objetivo principal de este trabajo fue investigar el comportamiento de fase a altas presiones de los sistemas binarios CO₂-limon (*lima tahiti*) y CO₂-bergamota. El método que se usó una célula de volumen variable que fue empleada para obtener los datos experimentales de CO₂ en una gama de composición total 5 a 98% de peso, de 313K a 343K y presiones hasta 19 MPa. Para ambos sistemas, los datos experimentales revelaron la presencia de los equilibrios liquido-vapor y liquido-liquido y transiciones de fase liquido- liquido- vapor.

Ambos trabajos se asemejan en la aplicación de la extracción mediante CO₂ supercrítico para la obtención del aceite esencial de limón. La diferencia es el objetivo que se persigue, debido a que esta solo estudia el comportamiento de la mezcla binaria limón-CO₂ a altas presiones y además estudia el sistema CO₂-bergamota.

De igual forma, Poiana (2004) establece el estudio de la composición de los extractos alcohólicos de limones procedentes de Italia, en las zonas Amalfi y Sorrento, es decir, muestras de los cultivos "Sfusato di Amalfi" y "Limone di Sorrento". Los limones fueron cosechados mensualmente a partir de seis huertos en la zona de Amalfi y ocho huertos en la zona de Sorrento. Las cáscaras de los limones se presentaron como una infusión alcohólica similar a la utilizada para la producción de la bebida "Limoncello". Los extractos se analizaron por GC / MS y las fracciones volátiles fueron caracterizadas. Las composiciones observadas



fueron similares a los reportados para aceites esenciales de limón extraído por prensados en frío. La proporción de los carbonilos a compuestos oxigenados, alcoholes a compuestos oxigenados y ésteres a compuestos oxigenados son los índices de calidad de sabor. Estos mostraron una tendencia similar para ambos tipos de limón. Algunas evidencias para una producción de limón de calidad el extracto alcohólico puede ser deducido. A fin de normalizarla producción del "Limoncello" las variaciones en su composición durante la temporada tienen que ser tomadas en cuenta. Los compuestos carbonilos son importantes para determinar carácter olfativo. En Sorrento y Amalfi el nivel máximo de producto extraído se encontró en las muestras que fueron cosechadas en primavera. Estos componentes se encontraban en una proporción correcta de la fracción oxigenada en un grabado con un aroma de Citral. Los esterres se encontraban en una relación correcta, con respeto a los demás componentes, y acentúa el sabor floral.

Las semejanzas con este trabajo es la extracción del aceite esencial utilizando de una variedad de limón aunque estos son provenientes de las zonas de Amalfi y Sorrento y que lo obtienen para la realización de limoncello. La diferencia es el método de extracción utilizado que para el caso de este trabajo de investigación es prensado al frío.

Por otra parte, Marín y Ojeda (2005) desarrollaron un proceso de extracción del aceite esencial del clavel de la india (*Tabernaemontana divaricata*) con CO₂ para la producción de fragancias. Para ello fueron determinadas las mejores condiciones de extracción, desarrollaron una fragancia en base a la esencia extraída, estudio de mercado para incursionar con el nuevo producto y una evaluación técnico-económica para el establecimiento de una planta piloto.

El aporte de este trabajo de investigación fue la utilización del CO₂ supercrítico para la extracción del aceite esencial. La diferencia es que la materia prima utilizada fue el clavel de la india y que el fin del mismo es para la producción de una fragancia.

En este sentido, Atti-Santos *et al.* (2005) Realizaron la extracción del aceite esencial de la lima (*Citrus latifolia Tanaka*) mediante los métodos de



hidrodestilación y extracción con CO₂ supercrítico. En el caso de la hidrodestilación, los parámetros evaluados fueron el tiempo de extracción y las características de la materia vegetal. En la extracción supercrítica, los parámetros evaluados fueron la temperatura, presión, flujo de CO₂, tiempo de extracción y las características del material. Teniendo en cuenta el contenido de Citral, las mejores condiciones para la hidrodestilación fueron una destilación de 3 horas utilizando cáscaras enteras. Las mejores condiciones para la extracción supercrítica fueron 60 °C, 90bar, un flujo de CO₂ de 1mL/min durante 30 minutos, usando las cáscaras molidas. El rendimiento fue mayor por hidrodestilación (5,45% p/p) y por la extracción supercrítica (7,93% p/p)

El aporte al trabajo de investigación fue el uso del método de extracción con CO₂ supercrítico. La diferencia es la materia prima utilizada y que realizaron extracción de aceite esencial por el método de hidrodestilación

No obstante, Ismail *et al.* (2005) realizaron estudios con limón [*Citrus limon (L) Burm. f.*] y la toronja (*Citrus paradisi Macf*) los aceites esenciales fueron obtenidos por prensado en frío de la cáscara de limón y de la toronja. Fueron analizadas por un cromatógrafo de gases de la alta resolución, (HRCG), y un cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas de alta resolución (HRGC/MS). En total, 42 y 27 componentes han sido identificados en los aceites de limón y toronja, respectivamente. EL aceite de limón mostró un alto contenido de hidrocarburos monoterpenos 89,9% con 61,8% de limoneno, γ -terpineno un 10,6% y β -pineno 8,1%, siendo los tres componentes principales. Del mismo modo, el aceite de toronja se ha caracterizado por su alto contenido de hidrocarburos monoterpenos 96,4% de los cuales el 92,5% limoneno y mircenol 2,6% siendo sus dos componentes principales. Aceite de toronja contiene una menor cantidad de hidrocarburos sesquiterpenos, aldehídos, alcoholes y ésteres que en el aceite de limón.

El aporte de este trabajo fue la utilización de una variedad de limón y que el aceite esencial fue analizado por medio de un cromatografía de gases para determinar



son componentes. Las diferencias es que aparte de utilizar el limón como materia prima utilizaron toronja para extraer el aceite esencial, también el método de extracción ya que utilizaron el método de prensado en frío.

Más adelante, López (2006) realizaron la extracción del aceite esencial del limón y mandarina mediante un solvente (alcohol), luego concentraron las muestras en un rotoevaporador para retirar el solvente adicionado. Posteriormente se realizó la caracterización mediante Cromatografía de capa fina, espectrometría infrarrojo y cromatografía de gases obteniendo los siguientes componentes principalmente: limonen, mirceno, citral, terpineno y pineno. Además se realizó un producto de aromaterapia.

El aporte al trabajo de investigación fue la extracción del aceite esencial del limón y la caracterización mediante cromatografía de gases. La diferencia fue el método de extracción (extracción con solvente).

Según se ha citado Kirbaslar and Boz (2006) realizaron la extracción de aceite esencial de la cáscara del limón [*Citrus limón (L). Burm. F.*] y toronja (*Citrus paradisi Macf*) y el método de extracción fue prensado en frío. Los aceites se analizaron mediante Cromatógrafo de gases de alta resolución (HRGC) y un Cromatógrafo de gases de alta resolución con Espectrómetro de masas (HRGC/MS). En total 42 y 27 componentes han sido identificados en los aceites esenciales de limón y toronja respectivamente. El aceite esencial del limón mostró un alto contenido de monoterpenos (89,9%) con limoneno (61,8%), γ -terpineno (10,6%) y β -pineno (2,6%) siendo estos sus componentes principales, en el caso de la toronja resulto de igual forma con un alto contenido de monoterpenos (96,4%) de los cuales el limoneno (92,5%) y mirceno (2,6%) siendo estos sus componentes principales.

El aporte al trabajo de investigación fue la caracterización mediante un Cromatógrafo identificando así sus componentes mayoritarios. La diferencia fue la materia prima utilizada y que el método de extracción es prensado en frío.



Por su parte, Rueda *et al.* (2007) realizaron el estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja, de la especie cultivada en la región de Labateca, en el Norte de Santander Colombia, (*Citrus sinensis, variedad valenciana*), fue obtenido por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO). Su análisis por Cromatografía de Gases de Alta Resolución (CGAR) permitió identificar como componente volátil mayoritario del aceite esencial es el monoterpeno oxigenado limoneno con un 90,93%.

El aporte al trabajo de investigación en desarrollo fue la Caracterización del aceite esencial por cromatografía de Gases. La diferencia fue la materia prima utilizada y el método de extracción que utilizaron.

Del mismo modo, Seied y Mahdi (2007) realizaron la extracción de aceites esenciales de plantas y analizaron su aceite más volátil, fundamentando sus modalidades y aplicaciones de la extracción con fluido supercrítico en el retiro de aceites esenciales de matrices de plantas. Se realizó la extracción con fluido supercrítico principalmente con el dióxido de carbono puro, que facilitan el tiempo diferido la colección de extractos y el enganche en línea con otros métodos analíticos como la cromatografía gaseosa líquida y de fluido supercrítico. Mostrando el número de factores que influyen en la extracción, estos serán la solubilidad del soluto en el fluido, la difusión por el proceso de colección de matriz. Finalmente la extracción convencional en términos de selectividad, rapidez, limpieza y posibilidad de manipular la composición del extracto volátil.

El aporte que se encuentra con el trabajo de investigación en desarrollo con la utilización con fluido supercrítico, especialmente CO₂, en plantas con aceites esenciales volátiles como el limón. La diferencia en el trabajo de investigación a llevar a cabo, es que se utilizaran varios métodos para la extracción del aceite esencial del limón Eureka.

Por otra parte, Cerpa (2007) realizó un estudio que comprende la transferencia de masa, mediante un modelado matemático básico, versátil, consistente e integrado termodinámicamente; ubicar el aceite esencial en la matriz herbácea, mediante el



análisis micro-histológico por SEM; identificar, determinar y discernir la composición química de los aceites esenciales, mediante el análisis cromatográfico combinado con la espectrometría de masa (GS/MS); se procesaron 5 plantas aromáticas, en un equipo piloto con diferentes flujos de vapor de agua y diferentes porosidades del lecho vegetal. Las plantas fueron: Lavandina súper (*Lavándula angustifolia M. x latifolia M.*), con un rendimiento de $(1,36 \pm 0,138\%)$ g/g, en base húmeda (53% g/g H₂O), en 12 pruebas experimentales, con una carga fija por prueba; usando sus flores y tallos parcialmente cegados. Romero español (*Rosmarinus officinalis L.*): con un rendimiento de $1,35 \pm 0,104 \%$ g/g en base húmeda (22,5% g/g H₂O), en 9 pruebas experimentales, diferentes cargas de planta y usando sus flores y hojas enteras. Mejorana de España (*Thymus mastichina L.*): con un rendimiento de $1,63 \pm 0,20 \%$ g/g, en base humedad (11,3% g/g H₂O), en 8 pruebas experimentales, con una carga fija (1Kg) por prueba; usando sus hojas, flores y tallos enteros. Lavandinabrial (*Lavandula angustifolia L. x latifolia L.*); Con un rendimiento de $0,96 \pm 0,089\%$ g/g en peso, en base húmeda (27,3% g/g H₂O), en 9 pruebas experimentales, con diferentes cargas de planta; usando sus flores y tallos enteros. Dos plantas adicionales fueron procesadas y caracterizadas: hinojo dulce (*Foeniculum vulgare var. Dulce*) y siempreviva (*Helichrysum stoechas*). Sin embargo, no han sido consideradas para su modelado fenomenológico.

El modelado fenomenológico predijo la evolución de la hidrodestilación con una precisión aceptable. Los fenómenos controlantes del proceso fueron: exudación térmica del aceite en la interface desde las tricomas glandulares; la evaporación instantánea del aceite en la interface de la película superficial y la corriente de vapor circundante; y la difusión por convección del aceite en la corriente de vapor que atraviesa el lecho vegetal. Los parámetros del modelado: la constante de velocidad de la exudación térmica y el espesor de la capa de aceite en la película superficial, sirvieron para comparar la rapidez de la exudación térmica de una planta frente a otra; y el área de transferencia de masa efectiva entre distintas matrices herbáceas.



Mediante el análisis micro-histológico, se determinó que el aceite esencial está situado en los tricomas glandulares superficiales de las flores y hojas de las plantas estudiadas. En los casos de la mejorana de España y el hisopo español, los tricomas glandulares se encuentran en ambos de las hojas. En el caso del romero español, se encuentran solamente en el revés de las hojas y escondidos entre abundantes grupos de tricomas no glandulares. En el caso de los lavandines súper y abrial, se encuentran solamente en el anves de las flores y también escondidos entre abundantes grupos de tricomas no glandulares. En contacto con el vapor saturado, los tricomas glandulares liberan el aceite esencial contenido e implosionan, disminuyendo su volumen y cambiando su forma. La destilación diferencial en equilibrio de los aceites esenciales con el agua confirma que la hidrodestilación no solo es una operación de separación en equilibrio, sino que existen más fenómenos limitantes de la velocidad de obtención del aceite.

El aporte con el trabajo a desarrollar es la extracción y caracterización del aceite esencial. Las diferencias son que la extracción es por hidrodestilación, a parte el trabajo está enfocado en una modelación la hidrodestilación.

En contraste, Fernández y Manosalva (2009) desarrollaron un producto cosmético a base de la fragancia del aceite esencial de limón, para esto realizaron la extracción y caracterización de la variedad de limón (limón criollo), de la cual obtuvieron la mayor cantidad de citral, utilizando como método de extracción fluido supercrítico empleando dióxido de carbono, la extracción supercrítica se desarrolló mediante la aplicación de un método factorial 2^3 , en donde los factores estudiados fueron la presión y los tiempos estático y dinámico, sobre el porcentaje de citral en representación de la calidad como variable de respuesta. Adicionalmente, realizaron un diseño factorial 3^2 , en la cual obtuvieron las condiciones óptimas de extracción las cuales fueron de un tiempo estático de 18 min y la presión de 108,3 bares.

Este trabajo de investigación presenta similitud con la investigación a desarrollar ya que se realizó la extracción del aceite esencial de diferentes variedades de



limón empleando dióxido de carbono como fluido supercrítico. Se diferencia de la investigación a desarrollar ya que esta busca caracterizar y comparar mediante diferentes métodos la extracción del aceite esencial del limón Eureka y no en el desarrollo de un producto cosmético.

Sin embargo, Ardila *et al.* (2009) evaluaron la potencial aplicación de aceites de plantas extraídos por arrastre con vapor como posibles conservantes y antioxidantes naturales en un producto cárnico como el salami, que permitan sustituir parcial o totalmente aditivos como el nitrito y butilhidroxianisol por diferentes tipos de combinaciones de aceites esenciales y extractos vegetales que encontramos en: *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*. Se procesó el producto cárnico adicionando los extractos que presentaron mayor actividad antibacterial y antioxidante (pruebas in vitro de actividad antibacterial en *Clostridium perfringens* con el método de Kirby Bauer, y de actividad antioxidante mediante la inhibición de la peroxidación del ácido linoléico y el test de β -caroteno-ácido linoléico) en una concentración de 250 ppm, para realizarle análisis microbiológicos (recuento de esporas de *Clostridium sulfito reductor*) y bromatológicos (contenido de proteína y grasa) en un periodo de almacenamiento de 30 días, además de las pruebas sensoriales de perfil, hedónica y de color, donde se determinó que el producto sólo difiere del producto sin especias; en las propiedades de aroma y sabor del aceite esencial agregado, el producto gusta al consumidor y no tiene una diferencia estadísticamente significativa en las características de color.

El aporte al trabajo de investigación fue el método de extracción. La diferencia fue la materia prima para la extracción del aceite esencial y que la evaluación del mismo fue para ser utilizado como conservantes y antioxidantes de productos cárnicos.

También, Di Vaio *et al.* (2010) determinaron la composición de los aceites esenciales y la actividad antioxidante del extracto de etanol de la piel del limón



para lo cual analizaron 18 variedades, procedentes de Sicilia y Campania, tomaron una muestra de 60 frutos por variedad (20 de 3 plantas) determinaron: peso medio del fruto, polar y ecuatorial diámetro, espesor de la piel, el número de semillas, porcentaje de jugo, valorable acidez y pH del jugo. Los extractos alcohólicos obtenidos para cada cultivar fueron analizadas por su actividad antioxidante con el ABTS ensayo y composición del aceite esencial mediante GC/FID. El aceite obtenido de la cáscara esencial era limoneno, lo que representa de un 72,5 a 76,4 %, seguido β -pineno 11,6 a 18,7 %, Varios hidrocarburos monoterpenos que también fueron identificados en un contenido apreciable, terpineno 2,88 a 8,26 %, α -pineno 1,4 a 1,5 % y mirceno 0,95 a 1,12 %. Demostraron no hay una relación clara entre la actividad antioxidante y la composición del aceite esencial de los extractos. En este estudio identificaron los cultivares con mayor contenido de aceite esencial y la actividad antioxidante.

Este trabajo de investigación presenta la extracción del aceite esencial de diferentes variedades de limón, además de identificar sus características fisicoquímicas mediante cromatografía de gases, sin embargo se diferencia de la investigación a desarrollar en el método de extracción utilizado el cual fue (solvente extractor) enfocándose principalmente en los extractos alcohólicos obtenidos para el análisis de su actividad antioxidante.



2.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.2.1 CULTIVO DEL LIMÓN (EUREKA):

La variedad Eureka se originó en Los Ángeles, California, en un grupo de semilleros cultivados de la fruta de origen italiano, dicha semilla fue plantada en 1858. Varios años después Andrew Boyle y C. R. Workman adquirieron algunas de estas semillas y finalmente escogieron las más prometedoras. Cerca de 1877, Workman proporcionó uno de estos semilleros a Thomas A. Garey, un arboricultor prominente de Los Ángeles, y lo propagó e introdujo bajo el nombre de Garey Eureka (Butterfield, 1963).

2.2.2 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA.

TABLA 2.1.
TAXONOMÍA DEL LIMÓN EUREKA

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceae
Género	Citrus
Especie	Eureka
Nombre científico	Eureka
Nombre común	Limonero Eureka

Fuente: (Morín, 1980)

Las hojas: Las hojas alternas, de color rojizo cuando son jóvenes, son verde oscuro por encima, por debajo verde claro, oblongas, elípticas o largamente aovadas, 2^{1/2} a 4^{1/2}Pulgadas (6.25 a 11.25 cm) de largo, finamente dentadas, con delgadas alas sobre el pecíolo (Morín, 1980).

Flores: Presenta una floración primaveral larga y es refloreciente, por lo que su periodo de cosecha es bastante extendido y produce una abundante cosecha de verano las flores de suave fragancia pueden ser solitarias o pueden existir 2 o más



agrupadas en las axilas de las hojas. Cuando brotan son de color rojizo; las flores abiertas tiene 4 ó 5 pétalos de 3/4 pulgadas (2 cm) de largo, de color blanco en la superficie superior (interior), púrpura debajo (fuera), y unos 20 a 40, estambres con anteras amarillas unidos (Morín, 1980).

Fruto: Su fruto es una variedad productiva, muy precoz en la entrada en producción y con frutos que tienden a ubicarse en la periferia del árbol, muchas veces en racimos en la punta de las ramas (Morín, 1980).

Es de forma elíptica a oblongo, con el pezón moderadamente saliente en el ápice, un collar bajo relieve en la base, de piel amarilla, con crestas longitudinales, ligeramente áspera a causa de las hundidas glándulas de aceite, medianamente gruesa, y no fácilmente separable de la pulpa; pulpa de color amarillo verdoso, con unos 10 sectores, de grano fino, tierna, jugosa, muy ácida, posee un alto contenido en Vitamina C y ácido cítrico (Morín, 1980).



Figura 2.1. Limón Eureka



El limón Eureka a menudo se producen en grandes grupos en los terminales de las ramas sin protección por el follaje (Figura 2.1.). Produce todo el año, pero más a fines del invierno, primavera y comienzos del verano cuando la demanda es alta para los limones (Morín, 1980).

2.2.3 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son mezclas homogéneas de compuestos químicos orgánicos, provenientes de una misma familia química. Tienen la propiedad en común, de generar diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. Poseen un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes en algunos casos (Günther, 1948; Teuscher *et al.*, 2005; Parry, 1921; Muñoz, 2002; Peter, 2004).

Los aceites esenciales o esencias están constituidos por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos, de los últimos los más frecuentes son: anetol (del anís, *Pimpinella anisum*, Umbellíferas), eugenol (del clavo, *Eugenia caryophyllata*, y de la pimienta *Pimenta officinalis*, Myrtáceas), magnolol (de la magnolia, *Magnolia obvata*, Magnoliáceas), cinamaldehído (de la canela, *Cinnamomum cassia*, Lauráceas) (Marcano y Hasegawa, 2002).

Entre los componentes volátiles aislados de las plantas también se encuentran ácidos libres (isovalérico, caprílico, en las flores de tabaco), aldehídos (heptanal, octanal, en el aceite de mandarina). Cetonas (1,2-ciclopentanodiona, en el café), compuestos azufrados como allicina (del ajo), isotiocianato de alilo (de la mostaza), etc. (Marcano y Hasegawa, 2002).

Estas sustancias son los constituyentes odoríferos o esencias de una planta, son productos volátiles, aromáticos, constituidos por una mezcla compleja de varias sustancias generadas por diversas rutas biocinéticas. Dado que las moléculas aromáticas de una planta existe en forma líquida inmiscible en agua, estos son clasificados como aceites esenciales, para diferenciarlos de los aceites grasos obtenidos por lo general de las especies clasificadas como oleaginosas. (Briga, 1962).



Estos aceites se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc. Se les puede encontrar en diferentes partes de la planta: en las hojas, en las raíces, en el pericarpio del fruto, en las semillas, en el tallo, en las flores y en los frutos (Guignard *et al.* 1985).

2.2.4 RESEÑA HISTÓRICA

El Antiguo Testamento recoge numerosos testimonios sobre el conocimiento y uso de los aceites esenciales, como relato en el que José fue vendido por veinte piezas de plata a un mercader de especias de Galad (Génesis 37, 1-36), el de la preparación de la timiama o unción sagrada para el uso de sacerdotes y en sacrificios u otras ceremonias religiosas (Éxodo 29, 7; 30, 9; 30, 22-34; 35, 28). No es difícil imaginar que estas sustancias, con sus diferentes sabores y aromas, dieran lugar a los primeros perfumes y esencias. Oriente estaba simbólicamente considerado como la cuna de la civilización, porque de allí provenían las primeras especias y otras materias primas. Lo mismo ocurrió con los aceites esenciales, cuyos primeros procesos de destilación ocurrieron en Oriente (Egipto, Persia e India). En la antigua Grecia, Roma y sobre todo a partir de la Edad Media, se elaboraban aceites esenciales cuya obtención distaba mucho del método utilizado en la actualidad. Se procedía a embotellar aceites grasos con flores, raíces u otras partes vegetales aromáticas. Después de un tiempo de maceración, y en muchas ocasiones gracias a la acción del sol, se conseguían los primeros “aceites olorosos”. Desde el inicio del siglo XVI y hasta el siglo XVIII, se sucedieron los avances en la elaboración de los aceites esenciales. Cabe destacar la obra “New GrossDestillirbuch” de Walter Reiff (1556) que contiene la primera referencia sobre la industria de estos destilados “...los alemanes compramos el aceite de Lavándula a los franceses para rellenar pequeñas botellas que luego se venden a un alto precio.”. Desde entonces hasta nuestros días, la industria perfumera no ha dejado de investigar en la obtención de nuevas fragancias y distintos métodos de extracción para obtener mejores rendimientos. Todos estos avances desarrollaron paralelamente las técnicas para su fraccionamiento y caracterización. En el siglo



XVIII comenzó la revolución química con el planteamiento de hipótesis sobre la naturaleza de las sustancias que componen estas mezclas y la forma de separarlas para conseguir su identificación. A partir de entonces las investigaciones de los aceites esenciales se han centrado en la separación e identificación de sus compuestos. El descubrimiento de estas cualidades de las plantas abrieron un amplio abanico de posibilidades a la industria farmacéutica, en la búsqueda de los compuestos responsables de las mismas. El uso de los aceites esenciales no se limita a estas aplicaciones. Todos los días, sin saberlo, estamos haciendo uso de algún producto o material derivado de estas sustancias.

2.2.5 APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales tienen un rango de aplicaciones muy amplio. Estos se usan en las industrias de alimentos, farmacéutica, cosmética y química, siendo incorporados en productos de consumo, jarabes, bebidas no alcohólicas, aderezos, mermeladas etc., o de uso externo, cremas, perfumes, jabones, geles; como saborizantes, aromatizantes y enmascarante de olores (CBI, 2004 y CBI, 2005). También ha sido tradicionalmente utilizado en botánica sistemática para establecer parentescos entre plantas, al principio en forma indirecta (utilizando el olor como carácter) luego en su forma química (CBI, 2004 y CBI, 2005).

Por otra parte se les está utilizando como conservadores para alimentos, especialmente cárnicos. Por sus propiedades insecticidas y acaricidas que poseen algunos aceites, se los produce con fines de controlar algunas plagas de manera ecológica (CBI, 2004 y CBI, 2005). Otro uso es en la terapia alternativa denominada aromaterapia. Por ejemplo, el aceite de lavanda se usa para las heridas y quemaduras, y el aceite de jazmín se utiliza como relajante (CBI, 2004 y CBI, 2005).

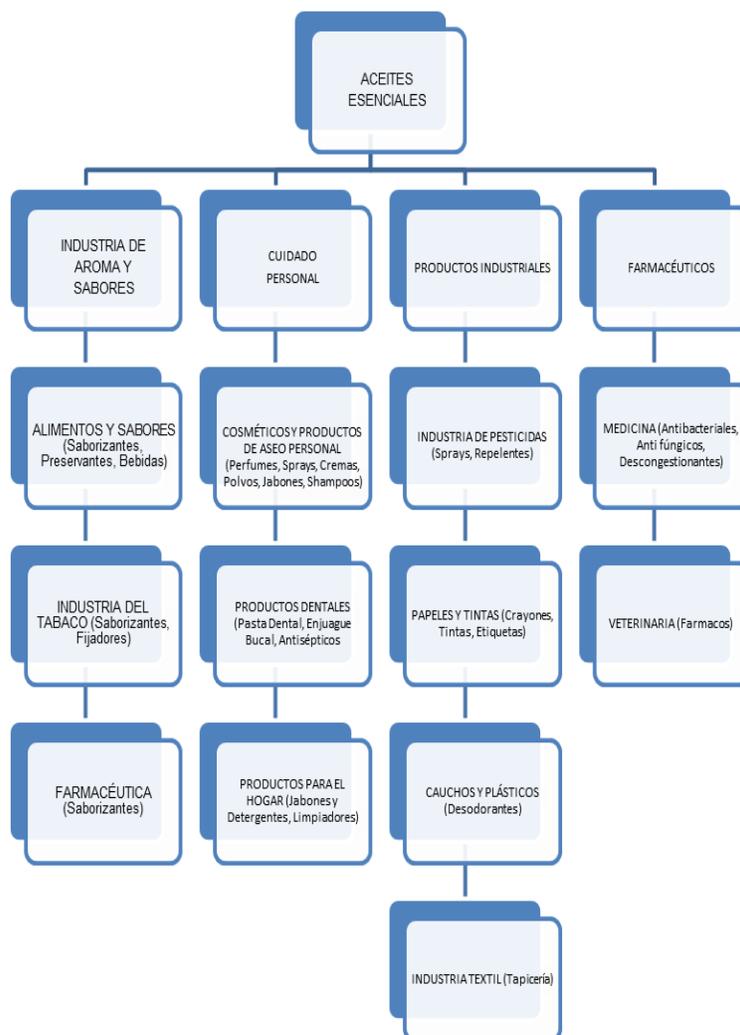


Figura 2.2. Principales aplicaciones de los aceites esenciales.

Fuente: Vargas y Bottia, (2008).

2.2.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS Y CONTROL DE LOS ACEITES ESENCIALES

El control de calidad de un aceite esencial tiene como objetivo garantizar que la esencia posee determinadas características analíticas (Oliveira, 2006).

Características Organolépticas	Determinaciones Físicas	Índices Químicos	Características Cromatografías
<ul style="list-style-type: none">• Olor• Color• Apariencia• Textura	<ul style="list-style-type: none">• Densidad• Índice de Refracción• Solubilidad• Poder Rotatorio• Punto de Congelación• Punto de Inflamación• Rango de destilación	<ul style="list-style-type: none">• Acidez• Ester• Saponificación• Fenoles• Acilo	<ul style="list-style-type: none">• Perfil Cromatográfico• Índices de Retención• Identificación por GC-MC• Cuantificación de los componentes principales• Adulteraciones

Figura 2.3. Parámetros analíticos empleados para establecer la calidad de los aceites esenciales.

Fuente: Vargas y Bottia(2008).

2.2.7 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES:

Todos los aceites esenciales son antisépticos, pero cada uno tiene sus virtudes específicas, por ejemplo pueden ser analgésicos, fungicidas, diuréticos o expectorantes. La reunión de componentes de cada aceite también actúa conjuntamente para dar al aceite una característica dominante. Puede ser como el de manzanilla, refrescante como el de pomelo, estimulante como el aromático de romero o calmante como el de clavo (Velasco *et al.* 2007).

En el organismo, los aceites esenciales pueden actuar de modo farmacológico, fisiológico y psicológico. Habitualmente producen efectos sobre diversos órganos (especialmente los órganos de los sentidos) y sobre diversas funciones del sistema nervioso. También son utilizados en plantas para alejar a los insectos herbívoros (Velasco *et al.* 2007).



Las aceites esenciales según la consistencia, origen y naturaleza de la mayoría de sus componentes (Martínez, 2001).

Según su consistencia, se clasifican en: Esencias fluidas, bálsamos, oleorresinas. Según su origen: Naturales, artificiales y sintéticos. Según su naturaleza: Los ricos en sesquiterpenos, los ricos en fenilpropanos y los ricos en monoterpenoides (Martínez, 2001).

2.2.8 ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN

Producto volátil obtenido del epicarpio fresco del fruto, se trata de un líquido de color amarillo pálido a verde amarillento; posee un aroma fresco que recuerda a la cáscara madura del fruto, su densidad relativa a 20/20°C es de 0,850 a 0,859, es soluble en alcohol o éter y poco soluble en agua (Cerutti y Neumayer, 2004).

La compleja mezcla de componentes del aceite esencial de limón está representada mayoritariamente por estructuras derivadas del isopreno, de naturaleza terpénica (Guenther, 1972; Pinder, 1960), entre las que el hidrocarburo limoneno es el más abundante como en el resto de los aceites esenciales de cítricos. Los derivados oxigenados de dichos terpenos no son mayoritarios, sin embargo tienen gran importancia en el característico aroma del aceite esencial (Laencina *et al.*, 1980; Prager y Miskiewicz, 1982; Sattaret *et al.*, 1986).

El aceite esencial de limón, contiene aproximadamente 2% de sustancias no volátiles en su mayoría en la forma de Coumarince, alrededor de 18 alcoholes, 16 aldehídos, 11 ésteres, 3 cetonas, 4 ácidos y 23 hidrocarburos. Los hidrocarburos de terpenos, los cuales constituyen la mayor parte del aceite esencial son insolubles en agua y susceptibles a oxidaciones. Para producir un aceite estable y soluble se llevan a cabo operaciones de extracción, concentración y deterpenación (Cerutti y Neumayer, 2004).

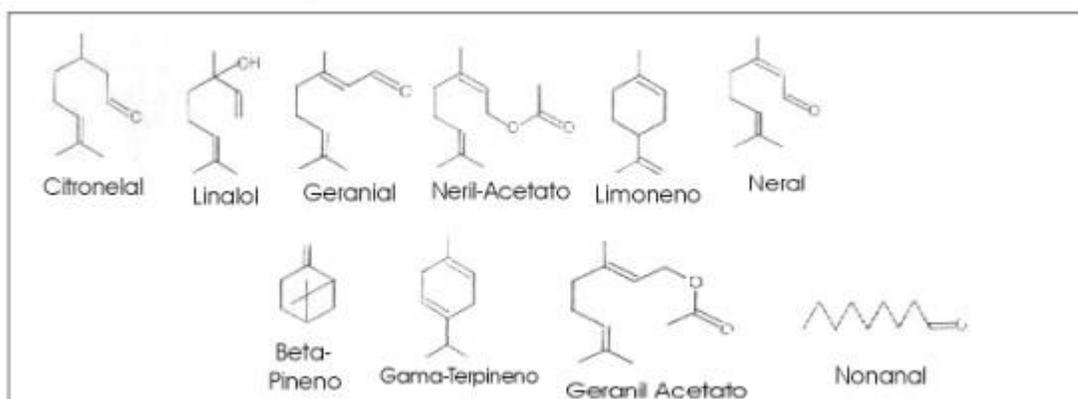


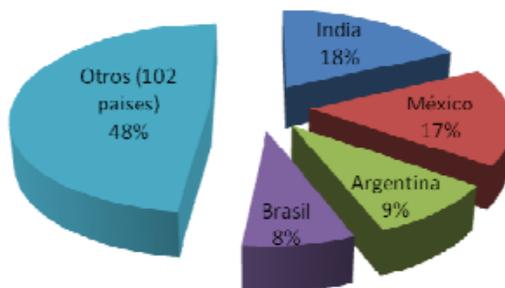
Figura 2.4. Compuestos Característicos del Aceite Esencial del Limón

Fuente: Cerutti y Neumayer (2004).

La industria emplea aproximadamente 190 Kg. de limón para obtener 1 Kg. de aceite esencial, es decir, para obtener una tonelada de aceite esencial destilado de limón se requiere limón fresco y en buen estado en una proporción aproximada de 250 toneladas. (Cerutti y Neumayer, 2004).

El dato más reciente según la FAO tiene para la producción mundial de aceite esencial de limón es del año 2008 cuando fue de 13.439.211 toneladas y crece a una tasa anual de 10%, y Argentina fue el principal productor mundial de aceite esencial de limón con 18%, seguido por México con 17%. En cuanto a los países importadores para el año 2007 según la FAO la importación mundial fue de 2.133.272 toneladas, siendo Estados Unidos el país con mayor importación con un 20%, seguido de Rusia con un 9%. En el mismo orden de ideas para el año 2007 según la FAO, en el caso de la exportación mundial del aceite esencial de limón fue de 2.259.008 toneladas. Todos estos datos son reflejados en las figuras 2.5 a 2.7.

PRODUCCION MUNDIAL, AÑO 2008

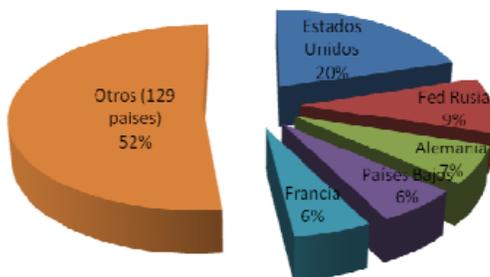


PRODUCCION MUNDIAL: 13,439,211 TON.

Figura 2.5. Producción mundial de Limón en el 2008

Fuente: FAO (2008).

IMPORTACION MUNDIAL, AÑO 2007.

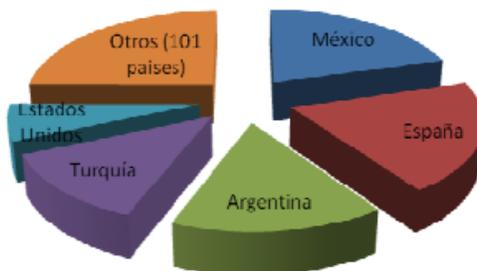


IMPORTACION MUNDIAL: 2,133,272 TON.

Figura 2.6. Importación mundial de limón en el 2007

Fuente: FAO (2008).

EXPORTACION MUNDIAL, AÑO 2007



EXPORTACION MUNDIAL: 2,259,008 TON.

Figura 2.7. Exportación mundial de limón en el 2007

Fuente: FAO (2008).



2.2.9 MÉTODO DE OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL:

Dado a que los aceites esenciales son mezclas complejas formadas por muchas sustancias, el método utilizado puede influir en la calidad y en la composición del producto obtenido, al menos dentro de un margen. Esto hace que el perfil aromático del aceite esencial varíe dependiendo del método empleado en su obtención (Ortuño, 2006).

- Extracción por arrastre por vapor.

Es el método más utilizado. Se genera vapor normalmente en un hervidor y luego se inyecta al destilador por donde pasa a través del material botánico. El principio básico de la destilación de dos líquidos heterogéneos, como el agua y un aceite esencial, es que cada uno ejerce su propia presión de vapor como si el otro componente estuviera ausente. Cuando las presiones de vapor combinadas alcanzan la presión del recinto, la mezcla hierve. Aceites esenciales con puntos de ebullición de hasta 300 °C, evaporan a temperaturas cercanas al punto de ebullición más alto que el agua (177.77°C). El vapor y el aceite esencial son condensados y separados.

Los aceites esenciales producidos de esta forma son, frecuentemente, diferentes al aceite original encontrado en el material botánico en varios aspectos y suelen utilizarse en manufactura de pinturas, gomas y productos textiles. Algunos químicos, no volátiles en el vapor, quedan en el destilador, estos compuestos no volátiles se pierden en la destilación. Además el proceso en si puede inducir cambios químicos, como la oxidación o hidrólisis (Sánchez, 2006).

- Fluidos supercríticos

En 1869 Thomas Andrews (1813-1885) realizó un estudio sistemático del equilibrio de fases del dióxido de carbono. Sus experimentos demostraron que la zona de equilibrio líquido-vapor disminuye a medida que aumenta la presión hasta que

ambas se encuentran en un punto característico de cada sustancia, denominado punto crítico (Espinosa, 2001).

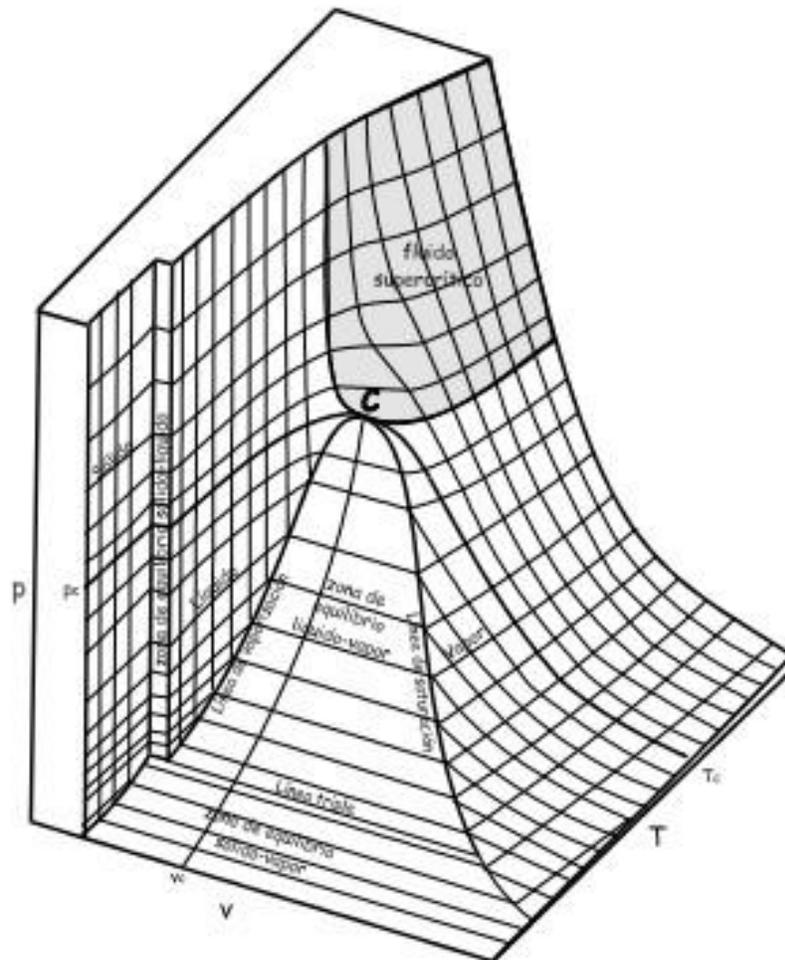


Figura 2.8. Superficie PVT de una Sustancia Pura

Fuente: Espinosa (2001)

La figura 2.8 es la representación gráfica de todos los estados de equilibrios posibles de una sustancia pura. El punto C es el punto crítico de la sustancia(Espinosa, 2001).

El punto crítico se define como la temperatura y la presión a la cual el gas y el líquido son indistinguibles (Palomino, 2003) Como podemos ver en la figura 2.9, cuando un fluido se somete a condiciones por encima de su punto crítico, se encuentra en estado supercrítico y se conoce como un fluido supercrítico, es decir, un fluido supercrítico es cualquier sustancia cuya

temperatura y presión son más altas que sus valores críticos y su densidad aproximada o mayor que su densidad crítica (Espinosa, 2001). En estas condiciones, varias propiedades del fluido se encuentran entre el gas y el líquido. La densidad de un fluido supercrítico es similar a la del líquido y su viscosidad es similar a la del gas (Herrero *et al.*, 2006).

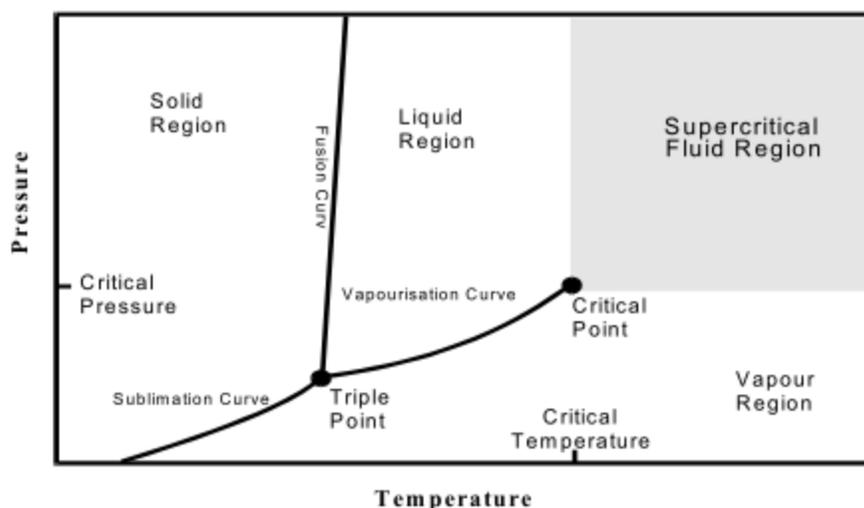


Figura 2.9. Diagrama Teórico de Fases de Compuestos Puros.

Fuente: Imison and Unthank (2000)

TABLA 2.2.
VALORES CRÍTICOS DE ALGUNOS FLUIDOS

Compuesto	Peso Molecular (g/ mol)	Tc (K)	Pc (bar)	vc (cm ³ /mol)
Agua	18.02	647.1	220.55	55.9
Dimetil éter	42.00	400.0	52.40	178.0
Dióxido de Carbono	44.01	304.2	73.83	94.0
Etano	30.07	305.3	48.72	145.5
Etanol	46.07	513.9	61.48	167.0
Etil acetato	88.11	523.3	38.80	286.0
Etileno	28.05	282.3	50.40	131.0
n-Hexano	86.00	507.5	30.1	368.2
Propano	44.10	369.8	42.48	200.0

Fuente:Espinosa (2001)



Al presentar el fluido supercrítico propiedades intermedias entre el gas y el líquido, este tiene gran capacidad de disolver compuestos que normalmente no disolvería o disolvería muy poco en el estado líquido o gaseoso. El poder de disolución de un fluido supercrítico varía con su densidad, la cual puede ser alta como el líquido o baja como el gas, dependiendo de pequeñas variaciones en la presión o en la temperatura (Raventós *et al.*, 2002). En la TABLA 2.3 se muestra las propiedades físicas medias de gases, fluidos supercríticos y líquidos.

TABLA 2.3.
PROPIEDADES FÍSICAS MEDIAS DE GASES, FLUIDOS SUPERCRÍTICOS Y LÍQUIDOS

Estado del fluido	densidad (g/cm ³)	viscosidad (g/cm.s)	difusividad (cm ² /s)
Gas, 1 bar	10 ⁻³	10 ⁻⁴	0.2
SCF (T _c , P _c)	0.3	10 ⁻⁴	0.7 10 ⁻³
Líquido	1	10 ⁻²	10 ⁻⁵

Fuente: Espinosa (2001)

Este tipo de fluidos presentan una gran capacidad de extracción, debido a que la acumulación de moléculas alrededor del soluto se produce en su máximo grado cuando las densidades son lo suficientemente bajas como para que predominen los efectos atractivos, ya que las moléculas no sufren exclusión debido a la existencia de mucho espacio libre entre ellas (Fernández y Fernández, 1997).

Uno de los fluidos supercríticos más utilizados en la extracción de compuestos es el dióxido de carbono, debido a que presenta ventajas comparativas, como su bajo costo, fácil obtención, propiedades críticas bajas (7,38MPa, 31,06 °C) (Gallego y Castañeda, 2004); adicionalmente, también se utiliza el



agua en estado supercrítico para la extracción de compuestos (Guerrero *et al.*, 2003).

Otras propiedades relacionadas con la utilización de fluidos supercríticos en procesos de extracción son: la baja temperatura de extracción, su selectividad para disolver y extraer clases seleccionadas de compuestos y que los productos finales sin residuos de solventes debido a que con solo modificar la temperatura y/o presión de operación puede separarse los componentes deseados de la mezcla extraído por el fluido supercrítico. Resultando así productos de alta calidad, sin degradación de sus componentes y libre de solventes (Espinosa, 2001).

- Extracción por medio de fluidos supercríticos

La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente; esta extracción permite controlar y manipular propiedades tales como la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura, lo que conlleva a una variación en la selectividad y el poder de solvencia de este (Gallego y Castañeda, 2003).

La extracción con fluido supercrítico es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas en una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico de modificar su poder disolvente (Bandoni, 2000). La extracción con fluidos supercríticos puede ser realizada en dos modos de operación: extracción selectiva o separación selectiva. La primera envuelve la capacidad de solvatación del fluido utilizado en la extracción por medio de la manipulación de las condiciones de temperatura y presión y/o modificando la naturaleza química del solvente con la adición de un co-solvente. En el segundo método de operación, una separación selectiva se obtiene por medio de la despresurización o de un calentamiento o enfriamiento gradual del sustrato, permitiendo con esto un fraccionamiento controlado de los productos por extraer (Mohamed, 1997).

El proceso de extracción mediante fluidos supercríticos cuenta con cuatro etapas básicas indispensables que son:

- Etapa de ajuste de temperatura: Remoción o adición de energía térmica ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas, para llevar el fluido comprimido a la temperatura de extracción requerida.
- Etapa de presurización: con el fin de alcanzar la presión necesaria del solvente para la extracción que se requiere ya sea por medio de un compresor o de una bomba.
- Etapa de extracción: Es llevada a cabo en un recipiente extractor a alta presión, el cual contiene la matriz que será procesada. En esta etapa, el fluido entra en contacto con la matriz y arrastra el soluto deseado.
- Etapa de separación: Es mediante la cual se separa la sustancia extraída del solvente (Gallego y Castañeda, 2004).

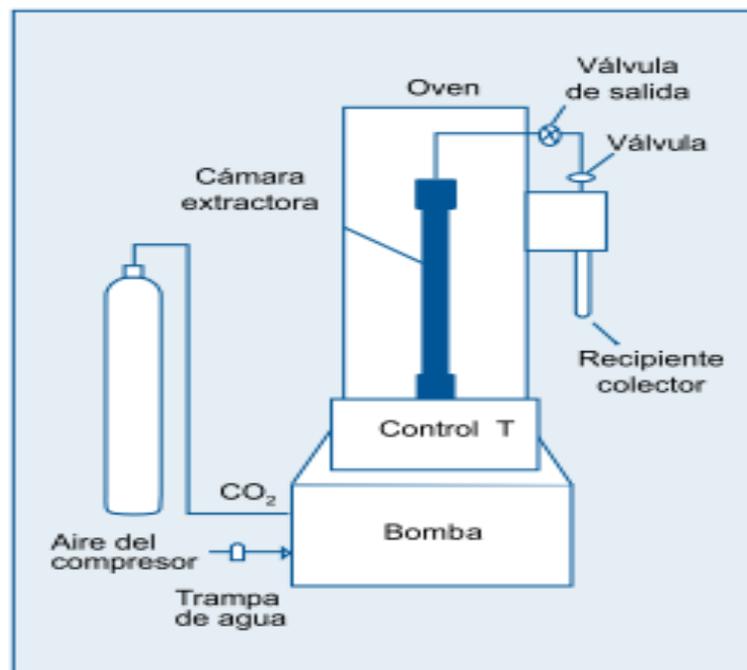


Figura 2.10. Unidad de extracción de aceites de nueces.

Fuente: Alexander *et al.* (1997)



La separación del compuesto extraído del solvente se puede lograr mediante cambios en la temperatura o presión, generando de esta manera que el compuesto extraído pierda su solubilidad en el solvente y se separe; otro método de separación del compuesto extraído es lavar el solvente para separar el compuesto de interés (Rozzi and Singh, 2002)

En este tipo de extracción, es muy importante controlar los parámetros de presión, temperatura y flujo del solvente, ya que son los que van a determinar cuál es el compuesto que se va a extraer, al modificar estos parámetros, se modifica la selectividad del solvente. El uso de fluidos supercríticos para realizar extracción tiene varias ventajas sobre los métodos tradicionales de extracción, ya que los solventes utilizados como el CO_2 presentan las siguientes características:

- Son amigos del ambiente, por lo que no se genera contaminación en el proceso.
- No son tóxicos en las cantidades utilizadas
- No se inflaman.
- Hay gran disponibilidad de ellos.
- Son baratos en grados de pureza elevada.
- No son necesarios procesos de limpieza subsecuentes.
- Son prácticamente inertes desde el punto de vista químico.
- Se separan fácilmente del producto que se quería extraer.
- Se pueden utilizar en un rango amplio de temperaturas, variando de esta manera la selectividad.
- El oxígeno puede ser liberado fácilmente de la matriz del producto para evitar oxidaciones de los compuestos (Bernardo-Gil et al., 2002).
- Tiene un mayor coeficiente de difusión y una menor viscosidad que los líquidos.
- La ausencia de tensión superficial permite una rápida penetración en los poros de matrices heterogéneas, lo que incrementa la eficiencia.



- La selectividad puede ser manipulada durante la extracción, variando los parámetros de presión y temperatura ya que esto afecta la solubilidad de los compuestos.
- El solvente puede ser reciclado de una parte del proceso y ser utilizado nuevamente (Rozzi and Singh, 2002).

Debido a estas razones, se está popularizando el uso de estos compuestos, pero, a pesar de todas las ventajas que enumeramos anteriormente, también presentan algunas desventajas, como son:

- El equilibrio de fases entre el soluto y el solvente puede ser muy complejo.
- Disuelve pocos compuestos no polares.
- El uso de co-solventes puede alterar la polaridad del CO_2 , pero a la vez estos co-solventes pueden quedar en el extracto, requiriendo una operación de separación posterior.
- Las altas presiones dificultan la adición continua de sólidos al extracto.
- Los costos de operación son elevados. (Bernardo-Gil *et al.*, 2002).

Algunas aplicaciones de la extracción con fluido supercrítico:

- Obtención de café y té sin cafeína
- Refinación de aceites
- Recuperación de sabores de especias
- Obtención de bebidas sin alcohol
- Productos animales sin colesterol y aceites de semillas
- Producción del aceite y la proteína del germen de trigo
- Tratamientos de hidrocarburos pesados
- Regeneración de carbón activado
- Cromatografía de fluidos supercríticos
- Fragancias, aromas y perfumes
- Antioxidantes de materiales vegetales
- Colores de alimentos pesticidas botánicos naturales (Mukhopadhyay, 2000).



CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se presentan de forma detallada los pasos de la metodología empleada para alcanzar los objetivos planteados en esta investigación.

3.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación es de tipo experimental, los datos se manejan de forma cualitativa y cuantitativa buscando conocer el comportamiento de las variables dependiendo de su naturaleza, haciendo pruebas continuas de laboratorio, de este modo se suscitaran eventos sustentados en la concurrencia de las variables involucradas por efecto de la causalidad, por lo cual se aplicó una metodología experimental basada en el comportamiento de una variable mediante el conocimiento de otra variable relacionada (Saldaño, 2009).

En cuanto a la estrategia metodológica, la investigación que se desarrollo es de tipo mixta, debido a que la investigación se dio en fases, comenzando por una revisión bibliográfica donde se conocieron las mejores condiciones de operación de los equipos para realizar la extracción del aceite esencial por dos métodos , donde se comparó los rendimientos y se determinó la composición química de los aceites extraídos para cerrar la investigación se realizó un análisis comparativo del aceite esencial del limón Eureka con las muestras de aceite esencial de limón persa y limón criollo (Zorrilla , 1993).

3.2. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), en el Laboratorio de Extracción adscrito a la línea de investigación de extracción con Fluidos Supercríticos, ubicado en la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo.

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS

3.3.1. MATERIA PRIMA

La materia prima empleada para esta investigación fue el limón Eureka, un frutode tamaño medio, de color amarillo, de forma elíptica u ovoide, es una variedad con semillas y con mucho zumo.

3.3.2. EQUIPOS DE EXTRACCIÓN

Equipo de extracción supercrítico

Para obtener el aceite esencial del limón Eureka con CO_2 supercrítico se usó un equipo de extracción a escala de Laboratorio (AppliedSeparationsSpeed), el cual trabaja con dióxido de Carbono líquido (CO_2). El cual está conformado por cuatro módulos que se especifican a continuación (Figura 3.1):

1. El módulo de la Bomba de alta presión.
2. El módulo del horno.
3. El módulo de descarga.
4. El módulo de recolección.

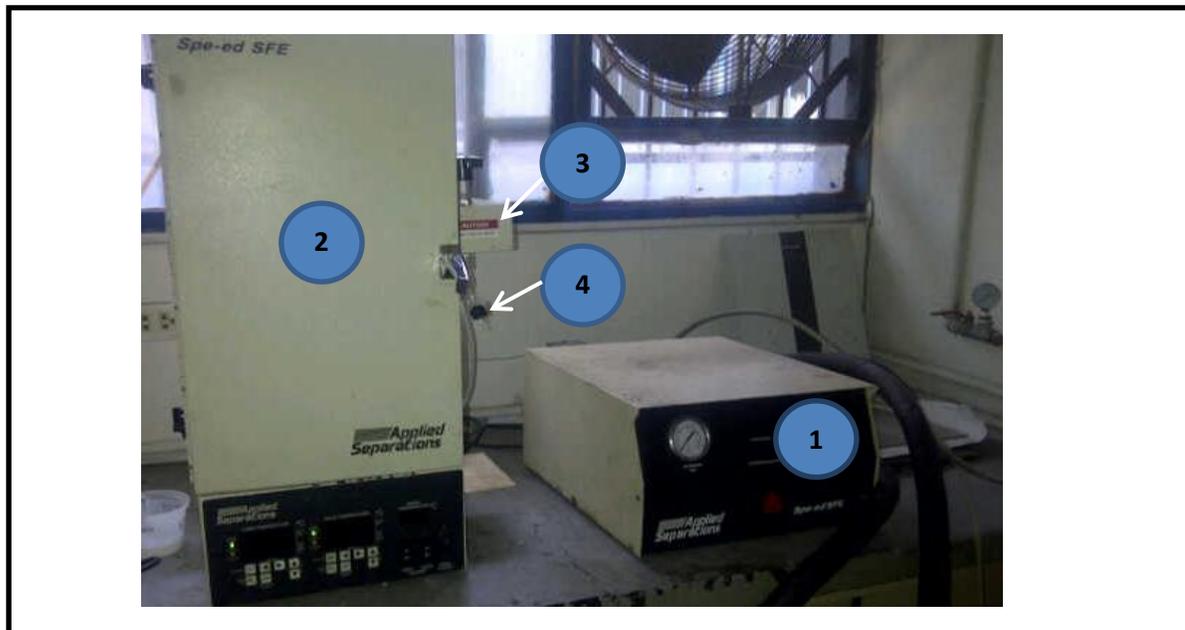


Figura 3.1. Equipo de fluido supercrítico



Además cuenta con un sistema de enfriamiento y un compresor, el compresor se encarga de suministrar aire a una presión máxima de 125 psig alimentando a un cilindro de aproximadamente 1200 cm³ de capacidad llamado cilindro pulmón, luego de su llenado automáticamente se apaga el compresor, cuando la presión comienza a descender hasta llegar a 75 psi comienza a funcionar hasta reponer nuevamente la presión. La máxima presión del módulo de la bomba de alta presión es 690 bar, esta es alimentada con el aire comprimido proveniente del tanque pulmón, para comprimir este aire se utiliza dióxido de carbono el cual está conectado al módulo de la bomba de alta presión, también posee una válvula que regula la presión de aire alimentado, estos niveles podrán ser visualizados en el indicador digital donde se indica la presión del dióxido de carbono y la presión del aire.

También está conectado al módulo de la bomba de alta presión el sistema de refrigeración, este retira el calor que se produce durante la compresión del dióxido de carbono mediante la recirculación de un líquido refrigerante a través de la bomba de alta presión. El módulo del horno está compuesto por un recipiente extractor de acero inoxidable de 1 litro de capacidad, el cual soporta una presión de 1000 psi, este cilindro está conectado por la parte superior con el sistema de recolección y descarga y por la parte inferior con las tuberías de la bomba de alta presión.

El módulo de recolección y descarga está conformado por dos válvulas micrométricas independientes las cuales regulan el flujo de CO₂ que sale por el cilindro de extracción hasta un máximo de 5 L/min. El equipo de extracción supercrítica puede ser operado de dos formas, mediante una extracción estática en la cual el fluido supercrítico se mantiene en contacto con la muestra por cierto tiempo (tiempo de extracción estática) o mediante extracción dinámica en la cual el fluido supercrítico fluye continuamente dentro del cilindro pasando por la muestra durante un cierto tiempo.



Equipo de extracción por arrastre a vapor

La extracción por arrastre de vapor de agua es uno de los principales procesos utilizados para la extracción de aceites esenciales, en esta investigación se realizó la extracción por arrastre a vapor en un equipo de destilación modificado, ubicado en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad de Carabobo. Este equipo tiene como componentes principales, un recipiente comercial con una capacidad de 6 L, una columna de Clevenger, una rejilla metálica interior, un condensador vertical, una plancha de calentamiento, accesorios para conexión con baño refrigerante-circulante como se puede observar a continuación (Figura 3.2).



Figura 3.2. Equipo de Arrastre por vapor

Cromatógrafo de gases

El equipo utilizado es un cromatografía de gases (CG), Modelo Agilent Technologies 7890A, equipado con un espectrómetro de masa (EM) selectivo



6975 C VMLD A. El gas portador o gas de arrastre empleado helio de alta pureza con un flujo de 0,5 a 1 micro litro, modo de inyección sin división (splitless). El equipo se encuentra ubicado en el Laboratorio del Centro de Investigaciones de Química en la Universidad de Carabobo.

3.4. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. EVALUACIÓN LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA MEDIANTE Y ARRASTRE POR VAPOR Y FLUIDO SUPERCRÍTICO

3.4.1.1. SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Para seleccionar la materia prima se realizó una investigación documental y bibliográfica preliminar, para conocer en primera instancia la ubicación de la misma, encontrándose a nivel nacional en los estados: Aragua (Villa de Cura), Carabobo (Belén) y Mérida, limitándonos a los Estados de la Región Central por la factibilidad en las fases de búsqueda y recolección del Limón Eureka, para la selección final se hizo un estudio entre los Estados Aragua y Carabobo basándose únicamente en la disponibilidad y abundancia de la materia prima, de tal modo que se seleccionó como materia prima el Limón Eureka ubicado en el estado Aragua, específicamente en el Municipio Zamora. Se tomaron 265 limones completamente amarillos sin magulladuras, para un total de 3,785 g de cáscara.

3.4.1.2. SELECCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA POR FLUIDO SUPERCRÍTICO Y ARRASTRE POR VAPOR.

Para la selección del diseño experimental se requirió de una investigación exhaustiva sobre la extracción con fluido supercrítico y extracción con arrastre por vapor, para esto es necesario conocer el tipo de extracción que se va a realizar.

Existen tres formas de realizar la extracción con fluido supercrítico las cuales son: dinámica, estática y estática-dinámica. En la extracción dinámica se recolecta el producto de interés a una presión constante. En la extracción estática se involucra una variable de tiempo denominado tiempo estático, el cual, es el tiempo en que



ha estado en contacto la muestra problema con el solvente extractor, en esta extracción se recolecta el producto inmediatamente después que el solvente extractor Dióxido de Carbono (CO_2) ha estado en contacto con la muestra problema durante un tiempo determinado (tiempo estático). La extracción Estática- Dinámica es aquella donde el solvente extractor alcanza las condiciones de operación, permanece en contacto con la muestra durante un tiempo estático y la extracción finaliza en el tiempo estipulado de extracción (tiempo dinámico)(Fernández y Manosalva, 2009;Matute y Quiroga, 2003).

También fue necesario conocer las posibles variables a manipular basándonos en investigaciones anteriores de extracción de aceites esenciales empleando fluidos supercríticos, encontrando así las siguientes: Flujo de solvente extractor (velocidad de transporte del dióxido de Carbono supercrítico durante la extracción en Litros/min), Presión de Operación (presión a la cual se debe mantener el fluido supercrítico para cumplir con el proceso de extracción en bar), temperatura de operación del Horno(temperatura existente en el recipiente de extracción, esta variable debe permanecer constante, debido a que los aceites esenciales poseen en su mayoría componentes volátiles por lo cual la temperatura dentro del horno deben ser bajas y cercanas a la crítica, en grados Celsius), temperatura del módulo de extracción (es la temperatura mediante el cual se controla la disminución de compuestos viscosos en el módulo de descargas, en grados Celsius), tiempo de Permanencia , Estático o de Equilibrio (tiempo en el que permanece en contacto el solvente extractor y la muestra problema luego de alcanzarse las condiciones de operación, en minutos),Tiempo de extracción Dinámico (tiempo estipulado desde que se abre la válvula de descarga hasta que se finaliza la recolección del extracto, en minutos)(Fernández y Manosalva, 2009;Matute y Quiroga, 2003).

Luego de conocer los formas de extracción con fluido supercrítico y se conocieron e identificaron las variables involucradas, se decidió que la manera en que se realizaría la extracción sería de manera Estática- Dinámica, ya que esta asegura obtener la mayor cantidad posible de aceite esencial, sin dejar de lado el solvente



extractor debe permanecer por encima de las condiciones críticas, en este caso se usó como solvente extractor CO₂ donde la temperatura debe mantenerse por encima de 31°C y de una presión 73,86 bar para realizar la extracción, las variables que se van a manipular son: presión, tiempo estático y el tiempo dinámico , dejando como variables fijas temperatura de extracción y caudal.

Para finalizar mediante un estudio y consulta bibliográfica de diseños experimentales, se utilizó el diseño experimental de tipo factorial, el cual se efectuó en dos niveles, donde se evaluaron las tres variables seleccionadas anteriormente (presión de operación, tiempo estático, tiempo dinámico), de este modo se tiene un diseño factorial de 2³ para un total de 8 experimento más sus respectivas replicas para un total de 16 experimentos (Fernández y Manosalva, 2009;Matute y Quiroga, 2003). Este mismo diseño se empleó para el método de extracción por arrastre de vapor seleccionando las variables a manipular (tamaño de partícula, cantidad de muestra, tiempo de extracción).

Una vez culminada la investigación se seleccionaron los factores y niveles con los cuales se realizó el diseño factorial tanto para fluido supercrítico como para arrastre por vapor, como se puede ver en las TABLAS 3.1 y 3.2.

TABLA 3.1 RANGOS DE OPERACIÓN ESTABLECIDOS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL 2³ ARRASTRE POR VAPOR

Factores	Nivel bajo (-)	Nivel alto (+)	Variable de respuesta
Cantidad de masa (cm ,g)	90	115	Rendimiento
Tiempo extracción (te, min)	25	35	
Tamaño partícula (tp,mm)	0,85	2	



TABLA 3.2 RANGOS DE OPERACIÓN ESTABLECIDOS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL 2³ MEDIANTE FLUIDO SUPERCRÍTICO

Factores	Nivel bajo (-)	Nivel alto (+)	Variable de respuesta
Presión (P, bar)	100	120	Rendimiento
Tiempo estático (te, min)	20	30	
Tiempo dinámico (td, min)	10	20	

3.4.1.3. PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA MEDIANTE FLUIDO SUPERCRÍTICO Y ARRASTRE POR VAPOR.

A. Extracción mediante fluido supercrítico

✓ Preparación de la muestra

Se quitó la piel del limón y se cortó finamente, luego se pesó la cantidad de muestra a utilizar, partiendo de una muestra de 60 g. Dado el impedimento de obtener un tamaño uniforme para todas las partículas debido a la inconsistencia y delgadez estas se someten a una molienda y se tamizan para obtener un tamaño de partícula no superior a 2mm² para realizar la extracción del aceite esencial con fluido supercrítico (Guillen y Hernández, 2003; Matute y Quiroga, 2003).

✓ Método operacional

La muestra ya preparada, se pesó (60 g) y se introdujo en el cilindro extractor que se encuentra en Figura 3.3, en el siguiente orden: guata, 180 metros de relleno, nuevamente guata y sobre esta última se colocó la muestra que finalmente



fue cubierta con una delgada capa de guata para proceder al cierre del cilindro (Guillen y Hernández, 2003;Matute y Quiroga, 2003).

Una vez que se verificó la temperatura del baño de enfriamiento que se encontraba por debajo de 0°C , se introdujo el cilindro extractor dentro del horno del equipo de extracción conectándose las tuberías de entrada y salida de CO_2 asegurando dichas conexiones con teflón para verificar la inexistencia de fugas, se introdujo la termocupla en el orificio superior del cilindro extractor, finalmente se cerró la compuerta del horno de extracción, se colocó en posición de encendido el interruptor principal S-5, así como se ajustó la temperatura del horno y de la válvula micrométrica a las condiciones deseadas, una vez alcanzadas se inició el proceso de extracción, con los tiempos estático y dinámico seleccionados en el diseño factorial (Guillen y Hernández, 2003;Matute y Quiroga, 2003).

Terminado el proceso de extracción el aceite extraído fue recolectado en un recipiente que se encontraba recubierto con una malla metálica sujeto fuertemente en la descarga del equipo de extracción, que ya había sido pre-pesado, sumergido en un baño refrigerante de agua con sal, terminada la extracción este se volvió a pesar (Ver apéndice C)(Guillen y Hernández, 2003;Matute y Quiroga, 2003).

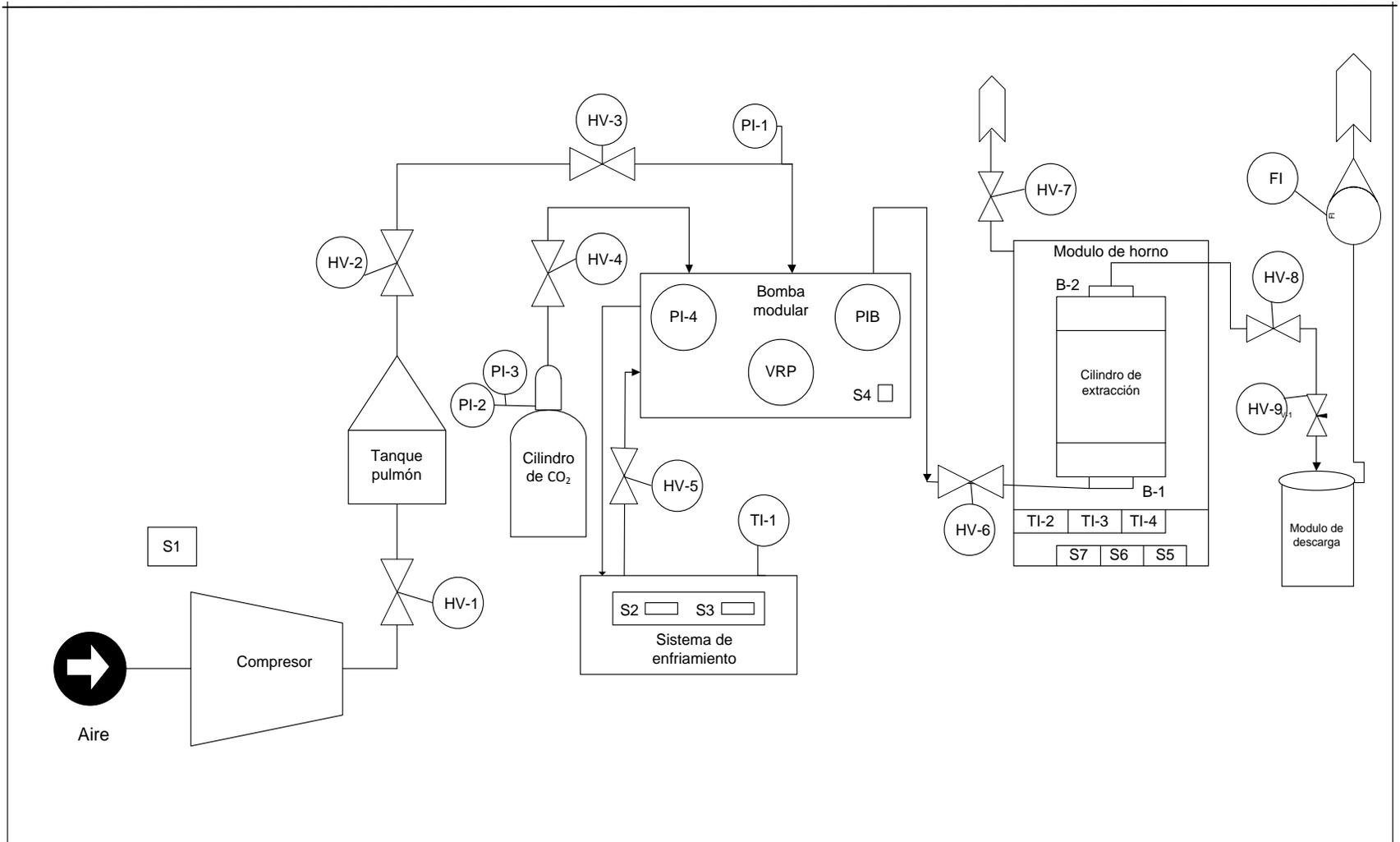


Figura 3.3. Diagrama de tuberías e instrumentación del equipo de extracción con fluido supercrítico.



B. Extracción mediante arrastre por vapor

✓ Preparación de la muestra

Se quitó la piel del limón y se cortó finamente, luego se pesó la cantidad de muestra a utilizar, partiendo de 90 g tomando en cuenta que la cantidad de masa es una de las variables a manipular. Dado el impedimento de obtener un tamaño uniforme para todas las partículas debido a la inconsistencia y delgadez estas se someten a una molienda y se tamizan para obtener un tamaño de partícula entre 2 mm^2 y $0,85 \text{ mm}^2$ para cada experimento respectivo (Guillen y Hernández, 2003; Pérez, 2011; Escobar, 2011).

✓ Método operacional

En primera instancia se encendió el baño refrigerante – circulante hasta obtener una temperatura inferior a los 0°C , seguidamente se agregaron 2 litros de agua al recipiente de acero inoxidable (Figura 3.4), se introdujo la rejilla metálica y sobre esta una capa delgada de guata, en la cual se colocó la muestra ya preparada y pre-pesada, se cerró el recipiente de acero inoxidable (Guillen y Hernández, 2003; Pérez, 2011; Escobar, 2011).

Una vez cerrado se colocó sobre la plancha de calentamiento, acoplándolo con la trampa Clevenger, la cual tenía en su otro extremo un condensador vertical, este condensador al igual que la trampa Clevenger estaba acoplado por mangueras de entrada y salida con el baño refrigerante –circulante, también se colocó un termómetro para verificar la temperatura en el recipiente (Guillen y Hernández, 2003; Pérez, 2011; Escobar, 2011).

Luego de realizado el montaje, se procedió a encender la plancha de calentamiento para generar vapor, una vez iniciada la condensación y pasado el tiempo de extracción establecido en el diseño factorial, se extrajo la parte orgánica, mediante un proceso de decantación, esta se introdujo en un envase recolector donde se le añadió sulfato de sodio anhídrido para eliminar el remanente de agua que quedo luego de la decantación, el aceite extraído fue trasvasado a un envase que ya había sido pre-pesado, y contenía un cristal de



butilhidroxitolueno para evitar la oxidación del mismo, finalmente fue pesado el envase recolector con el aceite (Ver apéndice C) (Guillen y Hernández, 2003; Pérez, 2011; Escobar , 2011).

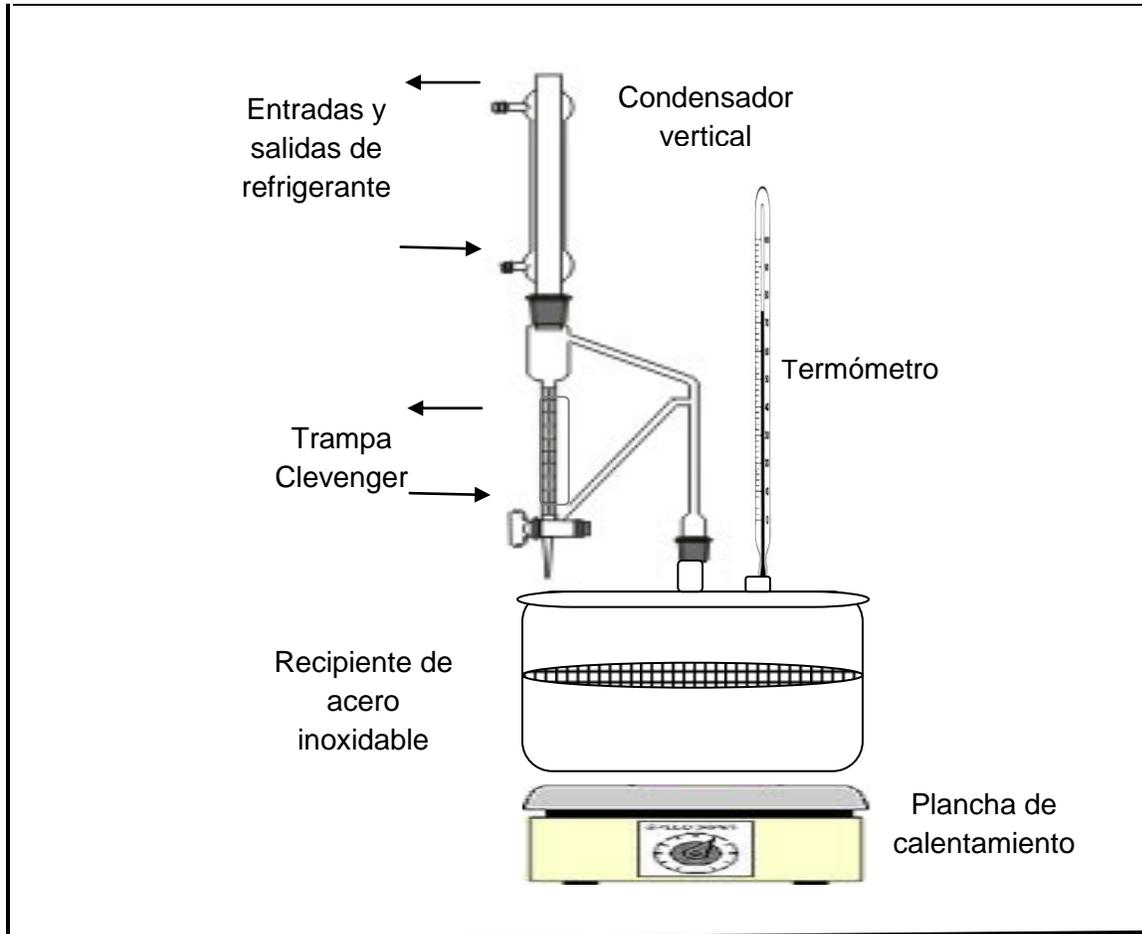


Figura3.4. Diagrama del Equipo de arrastre por vapor(Pérez, 2011).

3.4.2. SELECCIÓN DE LAS MEJORES CONDICIONES DE OPERACIÓN MEDIANTE MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

A. Determinación del rendimiento

Una vez realizada la extracción, fue necesario conocer cada uno de los rendimientos de dichos procesos. Para ello se plantearon los siguientes pasos: Pesar la cantidad de materia prima a utilizar en una balanza electrónica, seguidamente realizar la extracción para el limón Eureka, finalmente calcular el rendimiento en cada corrida. El modelo matemático empleado para ello fue el siguiente:



$$\% \text{ Rend} = \frac{m_{ee} - m_{ev}}{m_M} \times 100$$

(Garnizoet *al.*, 2001) (1)

Dónde:

% Rend: Porcentaje de rendimiento de la extracción (%)

m_{ee} : Masa del envase recolector con extracto (g)

m_{ev} : Masa del envase recolector vacío (g)

m_M : Masa de la muestra (g)

Se calculó el promedio de los rendimientos de cada muestra con sus respectivas replicas. Para ello se empleó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rend} = \frac{\sum \% \text{ Rend}_i}{n}$$

(Garnizoet *al.*, 2001) (2)

Dónde:

$\% \sum \% \text{ Rend}$: Porcentaje promedio del rendimiento de la extracción (%)

$\% \text{ Rend}_i$: Porcentaje de rendimiento de la extracción de cada corrida (%)

n: Número de corridas por muestra (adim)

Una vez calculado el rendimiento se procede a introducirlos en la herramienta estadística.

B. Análisis estadísticos obtenidos a través del diseño experimental

Luego de realizar las 16 experimentos correspondientes al diseño factorial 2^3 (TABLA 4.1) se procede a analizar dichos datos, esto mediante una



herramienta estadística correspondiente al programa **statgraphics plus** el cual realiza un análisis de varianza (ANOVA), que determina la influencia de tres variables estudiadas independientes y combinadas, para ello se analizan los gráficos estadístico que este genera, donde se aprecian los aspectos que influyen en el rendimiento de la extracción, dando a conocer las variables más influyentes en el proceso de extracción.

Para el método de arrastre se aplicaron dos métodos estadísticos adicionales, el SNK (Student-Newman-Keuls) para esto se procedió al cálculo de las medias, una vez calculadas, se compararon las medias más distantes, luego se verificó que la diferencias de las medias fuesen mayor que el n/k (Apéndice A), lo que indicaría que la diferencia es significativa, por lo que se conocería si las variables son influyentes en el proceso. Así mismo el método de MDS (mínima diferencia significativa) se calcula el $MDS\alpha$ (Apéndice A), para luego calcular el valor absoluto de las diferencia de los promedios y realizar las comparaciones con el $MDS\alpha$, si estas fuesen mayores que el $MDS\alpha$ las variables serán influyentes en proceso de extracción con arrastre por vapor.

C. Determinación de las mejores condiciones de operación para la extracción con fluido supercrítico y arrastre por vapor

Una vez conocida las variables más influyentes en el proceso de extracción del aceite esencial de limón Eureka, se utilizó el método estadístico de superficie de respuesta con la finalidad de obtener los valores donde el rendimiento de la extracción de la esencia del limón es mayor (TABLA 4.2), involucrando las variables más influyentes en tres niveles: uno bajo, un punto central y uno alto, lo que implica un total de 11 experimentos (Guillen y Hernández, 2003).

Se seleccionaron los niveles tomando en cuenta el rendimiento obtenido para las dos variables más influyentes, introducidas en la ecuación de rendimiento generada por el programa de análisis del diseño 2^3 (Guillen y Hernández, 2003). Luego de obtener los rendimientos teóricos, se seleccionaron los tres niveles (alto, medio, bajo) donde las variables se hacían mayores. De este modo se



encontraron las mejores condiciones de operación para el proceso de extracción, comparando los rendimientos teóricos obtenidos a través del programa con los rendimientos experimentales.

3.4.3. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA MEDIANTE ARRASTRE POR VAPOR Y FLUIDO SUPERCRÍTICO.

Se realiza la extracción por ambos métodos del aceite esencial del limón eureka, aplicando la metodología anteriormente descrita en el Apéndice C respectivamente para cada método, tomando en cuenta las mejores condiciones de operación obtenidas a través del análisis estadístico. Para ello se realizó un experimento para cada método de extracción.

3.4.4. IDENTIFICACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GAS

El principio básico de la cromatografía consiste en una distribución desigual entre dos fases: estacionaria y móvil de un determinado compuesto. Esto permite separar de una mezcla en sus componentes de acuerdo a sus diferentes distribuciones en un sistema de dos fases dado (Marcano y Hasegawa, 2002).

Para identificar los componentes principales del aceite esencial de limón eureka se realizó un análisis cromatográfico de las muestras obtenidas a través de la extracción por los métodos de fluido supercrítico y arrastre por vapor, para llevar a cabo esta identificación será necesario analizar las muestras en el cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masa con una rampa de temperatura de 80 °C por cinco minutos y programada de 10 °C/min hasta 250 °C/min, deteniéndose en esta última temperatura a los 25 min (Fernández y Manosalva, 2009).

La identificación de los compuestos se realizó inyectando las muestras e identificando los componentes según su tiempo de retención comparando con la librería que contiene el cromatógrafo; dicho análisis proporcionara la composición relativa de cada uno de los componentes presente en el aceite esencial de limón Eureka (TABLA 4.4) (Espinoza, 2001; Marcano y Hasegawa, 2002).



3.4.5 COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO CON OTRAS VARIEDADES DEL LIMÓN.

Una vez realizada la extracción e identificado cada uno de los componentes del aceite esencial de limón Eureka, se procedió a realizar una matriz comparativa con las otra variedades de limón obtenidas a través de trabajos bibliográficos donde se pueden observar sus semejanzas y diferencias en cuanto a su composición (TABLA 4.5).

Luego de obtener la matriz comparativa, se buscó en base a las características de sus componentes, las posibles aplicaciones del aceite esencial del limón Eureka, con la finalidad de ser utilizado en la fabricación de productos químicos y alimenticios.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En esta sección se presenta de manera detallada los resultados objetivos y el análisis de los mismos en base a los conocimientos adquiridos durante el desarrollo experimental del presente trabajo de investigación, para demostrar los objetivos planteados.

4.1 EVALUAR LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA

Para evaluar las condiciones de operación durante el proceso de extracción del aceite esencial del limón eureka por el método de arrastre por vapor y fluido supercrítico, se identificaron las variables a manipular, además de sus rangos de operación.

Los valores que se establecieron para estas variables en el proceso de extracción del aceite esencial del limón fueron: para arrastre con vapor: cantidad de muestra entre 90 y 15 g, tiempo de extracción de 25 y 35 min y tamaño de partícula entre 0,85 y 2 mm. Estos rangos se seleccionaron a través de pruebas preliminares. Para fluidos supercrítico se establecieron rangos basado en trabajos de investigación anteriores (Manosalva y Fernández, 2009). Donde la presión estaba entre 100 y 120 bar, tiempo estático entre 20 y 30 min y tiempo dinámico 10-20 min, estos rangos arrojaron en la investigación la mejor condición para la extracción con una presión de 108,3 bar, un tiempo estático de 18 min y un tiempo dinámico de 15 min, por tal motivo se decidió trabajar con los mismos ya que abarca la zona donde las condiciones son más favorables.

Los valores de las variables fijas durante los procesos de extracción para fluido supercrítico fueron: para la temperatura de operación del vaso presurizado igual a 40°C debido a que muchos de los componentes del limón son volátiles y muy sensibles, pueden volatilizarse o descomponerse, el flujo se fijó en 2,5 L/min debido a las limitaciones del equipo, se hace difícil la manipulación del rotámetro es inestable y lecturas mayores sube bruscamente creando malas lecturas, en



cuanto al módulo de extracción se fijó en 100 °C, esto motivado a que las tuberías tienden a obstruirse por congelación del dióxido de carbono (CO₂) a menores temperaturas (Manosalva y Fernández, 2009).

Posteriormente se llevó a cabo la evaluación de las condiciones de operación, se desarrolló el diseño experimental seleccionado (sección 3.4.1.2), para ello se realizaron 8 experimentos con sus respectivas replicas para un total de 16 experimentos. En el proceso de arrastre por vapor se obtuvieron los siguientes resultados (TABLA 4.1), rendimientos comprendidos entre 0,3 y 0,8 %, este diseño servirá de sustento para futuros trabajos de investigación, ya que no se poseen referencias ni trabajos anteriores que hayan aplicado un diseño experimental este método de extracción.

TABLA 4.1
RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL 2³ PARA
ARRASTRE POR VAPOR

Nº	Cantidad de muestra (Mm±0,001)g	Tiempo Extracción (Te±0,01)min	Tamaño de Partícula (Tm±0,01)mm	Rendimiento (%R±0,002)%
1	90,000	25,00	2,00	0,792
2	115,000	25,00	2,00	0,529
3	90,000	35,00	2,00	0,622
4	115,000	35,00	2,00	0,516
5	90,000	25,00	0,85	0,429
6	115,000	25,00	0,85	0,389
7	90,000	35,00	0,85	0,534
8	115,000	35,00	0,85	0,486

Dónde: presión = presión ambiente

Para fluido supercrítico con CO₂, se obtuvieron rendimientos entre 0,06 y 0,4 % (TABLA 4.2), lo cual fue un rendimiento aceptable en comparación con las investigaciones anteriores realizadas con este mismo equipo. En la cual se realizo un diseño experimental factorial para la extracción con CO₂ a partir de la piña y obtuvieron rendimientos entre 0,1 y 0,3 % (Guillen y Hernández, 2003),



por otro lado Fernández y Manosalva (2009), trabajaron con la variedad de limón Persa y obtuvieron rendimientos entre 0,09 y 0,3 %, estos valores se asemejan a la investigación, sin embargo estos se encuentran en su mayoría por encima del límite superior de ambos, esto puede deberse a diversos factores como: la variedad del fruto, el nivel de maduración del fruto, así como las condiciones actuales del equipo de extracción.

TABLA 4.2

RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL 2³ PARA FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Nº	Presión (P±0,1)bar	Tiempo Estático (Te±0,01)min	Tiempo Dinámico (Td±0,01)min	Rendimiento (%R±0,002)%
1	100,00	30,00	10,00	0,218
2	120,00	30,00	10,00	0,156
3	120,00	30,00	20,00	0,268
4	100,00	30,00	20,00	0,285
5	120,00	20,00	10,00	0,337
6	120,00	20,00	20,00	0,068
7	100,00	20,00	20,00	0,082
8	100,00	20,00	10,00	0,442

Dónde: temperatura de extracción T= (40,1 ±0,1) ° C, caudal de CO₂= (2,5±0.1) L/min

Una vez realizado el diseño experimental factorial 2³, se realizó un análisis de varianza con el fin de poder determinar la influencia de las variables principales dentro de ambos procesos de extracción. Se verificó la reproducibilidad de la variable de respuesta en nuestro caso el porcentaje en cuanto al rendimiento, utilizando el criterio 0,05 de incertidumbre, de este modo los valores son aceptables para un análisis de varianza (ANOVA), para ello se utilizó un paquete estadístico (statgraphics plus 5.1).



Este paquete permitió obtener información sobre las interacciones de las variables durante el proceso de extracción, mediante el cálculo de la suma de cuadrados, grados de libertad y medias de cuadrados e con el fin de calcular el factor de Fischer experimental para cada una de las variables en estudio y su influencia en el proceso como se muestra en la (TABLA 4.3 y TABLA 4.4).

TABLA 4.3
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA EN PORCENTAJE DE RENDIMIENTO PARA ARRASTRE POR VAPOR

Variables	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Factor de Fischer	F-tabulado 0,05
A:cantidad de muestra	0,03871	1	0,03871	1,47	5,318
B:tamaño de partícula	0,11961	1	0,11961	4,54	5,318
C: tiempo de extracción	0,02801	1	0,02801	1,06	5,318
AB	0,04002	1	0,04002	1,52	5,318
AC	0,00073	1	0,00073	0,03	5,318
BC	0,10154	1	0,10154	3,85	5,318
Error total	0,21090	8	0,02636		



TABLA 4.4
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA EN PORCENTAJE DE
RENDIMIENTO PARA FLUIDO SUPERCRÍTICO

variables	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Factor de Fischer	F-tabulado 0,05
A: presión	1,05625E-7	1	1,05625E-7	0,00	5,318
B: tiempo estático	0,00072	1	0,00072	0,04	5,318
C: tiempo dinámico	0,00090	1	0,00090	0,05	5,318
AB	0,00465	1	0,00465	0,6092	5,318
AC	0,11133	1	0,11134	6,78	5,318
BC	0,00126	1	0,00126	0,08	5,318
Error total	0,13142	8	0,01643		

En la TABLA 4.3 y 4.4 se puede evidenciar los resultados mediante el cual se calculó el F_0 experimental de cada factor, se puede deducir cuál de las variables o de sus interacciones es más influyente sobre el proceso de extracción, ya que mientras que $F < F_{0,05}$ (tabulado) la variable es influyente en el proceso.

Para el método de arrastre por vapor se obtiene $F < F_{0,05}$ (tabulado) al 5 por ciento del nivel de confianza como se observa en la TABLA 4.3, por lo que las variables



ni las interacciones entre ellas se consideran estadísticamente influyentes en el proceso, esto se puede evidenciar en las otras herramientas estadísticas como el diagrama de Pareto (Figura 4.1) ninguna de las variables ni las interacciones entre ellas cumplen con el mínimo establecido para ser influyentes en el proceso, el cual debería tener un efecto estandarizado mayor a 2,3. En el gráfico de los efectos principales (Figura 4.2) se evidencia la tendencia de los acciones de las variables de manera individual en el rendimiento, observándose que la variable tamaño de partícula es la que tiene mayor relevancia en el rendimiento pero esto no es concluyente para determinar si esta variable es influyente, y el grafico de los efectos de las interacciones (Figura 4.3) se muestra la tendencia de las acciones de las interacciones en el rendimiento, observándose que la interacción entre el tamaño de partícula y tiempo de extracción influyen en el proceso, pero el rendimiento es muy bajo por lo que se procede a concluir que ninguna de las variables en el proceso de arrastre con vapor no son influyentes, debido a esto fue necesario la aplicación de otros métodos estadísticos para este proceso, para ello se aplicó el método de mínima diferencia significativa (MDS) y el método SNK , ya que estos se pueden aplicar en datos que no tienen un comportamiento según una distribución normal. Luego de la aplicación de estos tratamientos para el grupo de datos, se obtuvo que en el MDS una de las variables influyentes en el proceso es el tamaño de partícula, lo que se puede apreciar en el apéndice A, mientras que para el SNK ninguna de las variables es influyente en el proceso. Sin embargo el SNK es mucho más sensible que el MDS, por lo que este último no es concluyente, por lo que no se logra establecer ninguna variable como influyente.

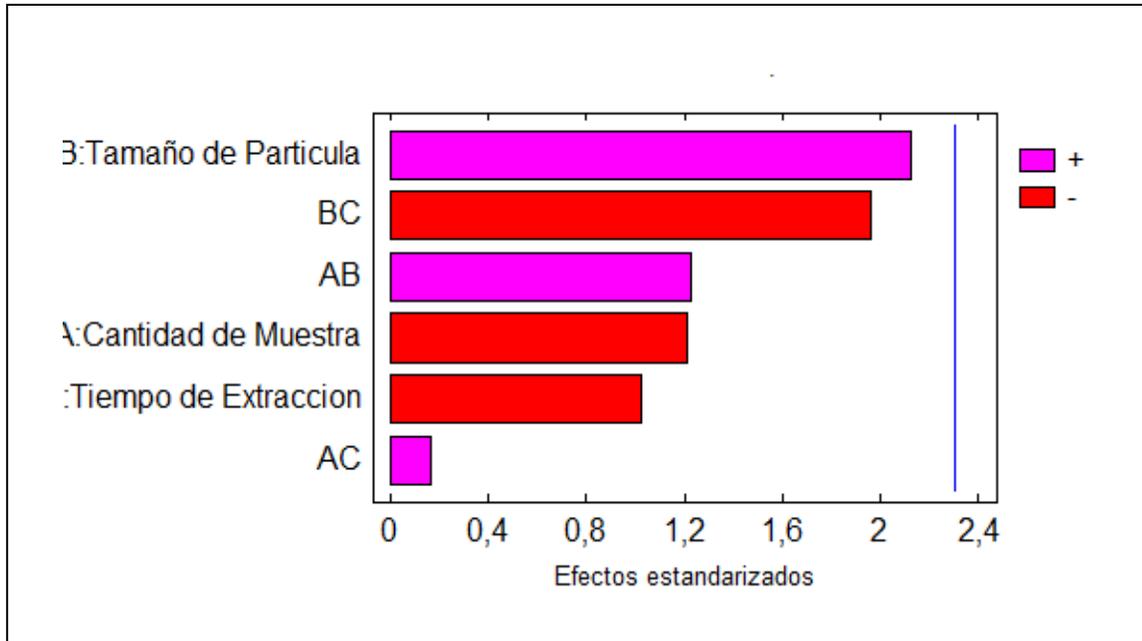


Figura 4.1. Diagrama de Pareto estandarizado para el % de rendimiento para arrastre por vapor

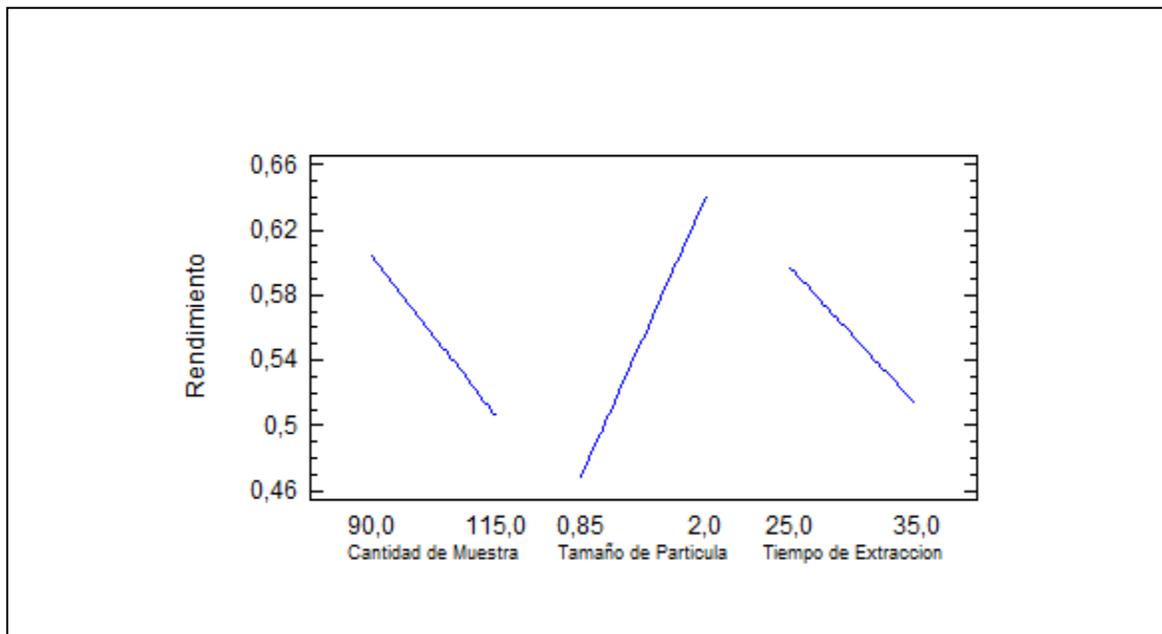


Figura 4.2. Gráfico de los efectos principales para él % de rendimiento para arrastre por vapor

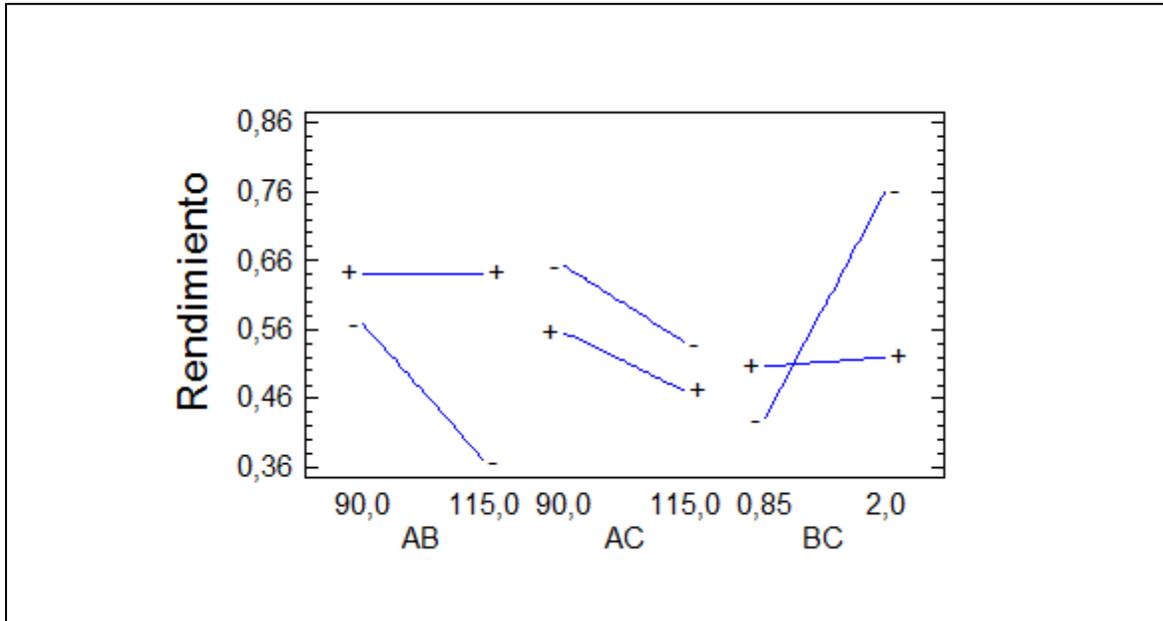


Figura 4.3. Gráfico de las interacciones entre las variables para % de rendimiento para arrastre por vapor

En la TABLA 4.4 se pueden observar los valores de F_0 experimentales, lo que nos indica que individualmente la variable que más influye en el proceso es el tiempo dinámico con un F_0 de 0,05 y en cuanto a las interacciones, la que más influye con un valor de F_0 de 6,78 es AC (presión - tiempo dinámico). En la Figura 4.4 como en las Figura 4.5 y 4.6 se evidencian el diagrama de Pareto, los efectos principales y sus interacciones con respecto al % de rendimiento respectivamente (Montgomery ,1996). Esto significa que los factores presión y tiempo dinámico influyen en el proceso, es decir, que al variar la presión y tiempo dinámico, el rendimiento cambiaría considerablemente.

Para evaluar la significancia de estos efectos se determinó un factor de Fischer teórico ($F_0(\alpha, v_1, v_2)$), a través de la tabla reportada en el apéndice B, donde α representa el nivel de confianza y v_1 y v_2 los grados de libertad del cuadrado medio del error respectivamente. De tal modo que el mismo nivel de confianza reportado por el programa y empleando en la TABLA I, se tiene que un $F_0(0,05; 1; 8)$ igual a 5,32, de este modo se cumple que $F_0 \text{ teórico} < F_0 \text{ experimental}$ por lo que se prueba estadísticamente que el factor afecta la variable de respuesta.

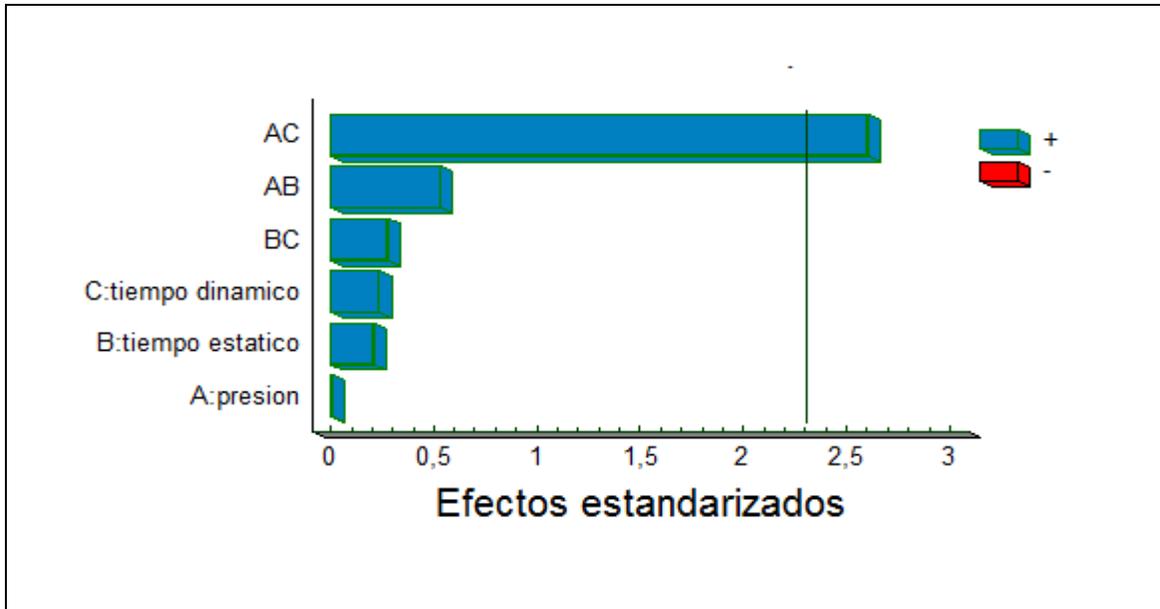


Figura 4.4. Diagrama de Pareto estandarizado para el % de Rendimiento para fluido supercrítico

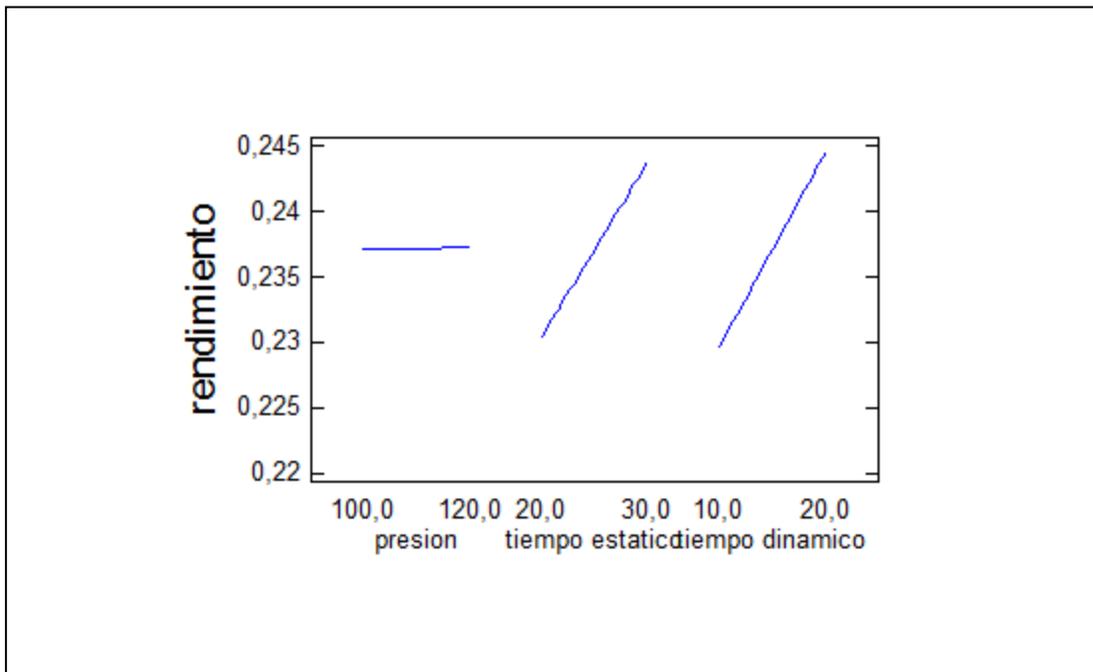


Figura 4.5. Gráfico de los efectos principales para el % de Rendimiento para arrastre fluido supercrítico.

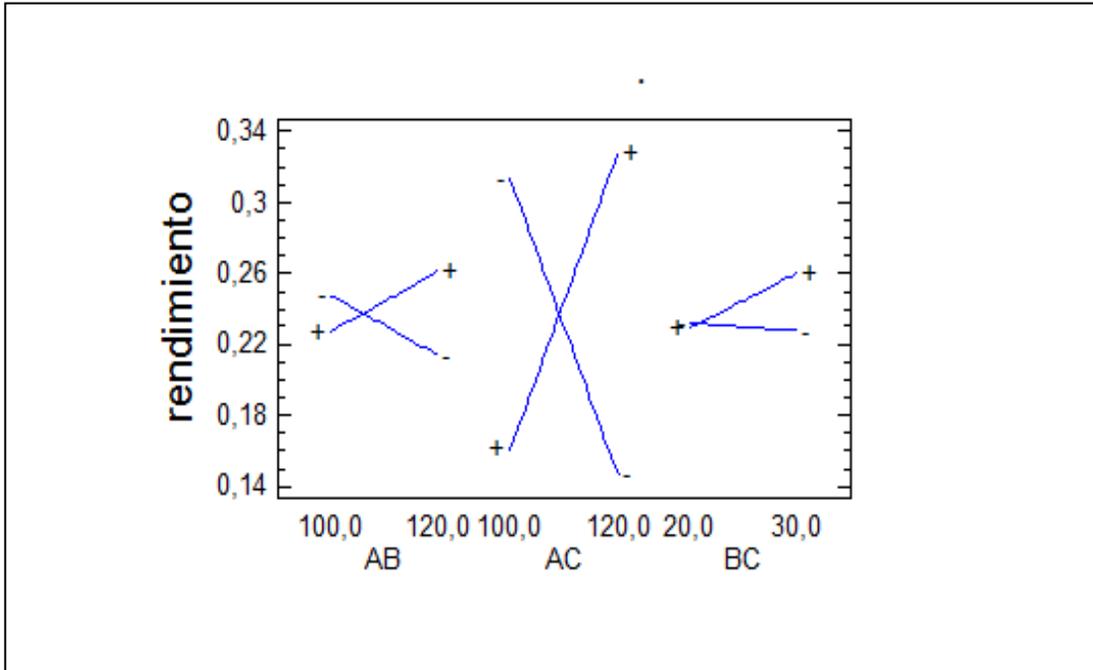


Figura 4.6. Gráfico de las interacciones entre las variables para % de Rendimiento para fluido supercrítico

Para el estudio de variables y sus interacciones sobre una variable de respuesta, es necesario estudiar los efectos individuales de las variables sobre el proceso, sin embargo el efecto de las interacciones tiene mayor significancia desplazando los efectos individuales de las variables sin importar que estas tengan un valor de F_0 experimental más elevado.

En la Figura 4.5 se observa que tanto el tiempo dinámico y tiempo estático, influyen sobre el proceso debido que se observa un cambio de respuesta, en cambio la presión presenta un cambio prácticamente nulo, sin embargo el tiempo dinámico es el que mayor efecto tiene en el rendimiento. En cuanto a la Figura 4.6, se puede constatar que hubo interacción en las tres combinaciones AB, AC y BC sin embargo la más significativa es AC (presión - tiempo dinámico), mientras que para AB es mucho menor y para BC es casi nula, estableciendo que la interacción que más afecta al proceso de extracción por el método de fluido supercrítico es la interacción presión- tiempo dinámico.



4.2 SELECCIONAR LAS MEJORES CONDICIONES DE OPERACIÓN MEDIANTE MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para seleccionar las mejores condiciones de operación fue necesaria la aplicación de otra herramienta estadística, por lo cual se empleó el método de superficie de respuesta (MSR), este nos permitirá encontrar las mejores condiciones para la extracción del aceite esencial del limón Eureka.

Este método busca optimizar la respuesta de interés, mediante la aplicación, análisis y modelado de las variables que influyen sobre el proceso, con este objetivo se ubica la variable de respuesta en función de dos factores.

$$y=f(x_1, x_2) + \varepsilon$$

(Cornell, 1990)(3)

Esta ecuación se establece de la siguiente manera y representa el rendimiento, X_1 tiempo dinámico, X_2 tiempo estático y ε representa el error observado en la respuesta. Se empleó un diseño central compuesto (DCC) de este modo ajustar los resultados y obtener una superficie de respuesta. Este método requiere de k factores, 2^k corridas factoriales, 2^k corridas axiales y al menos un punto central.(Box et al., 1988).

Este método solo se aplicó para fluidos supercrítico, debido a que por arrastre por vapor no fue posible determinar las variables más influyentes en el proceso según los resultados obtenidos experimentalmente. Sin embargo el paquete estadístico genera una supuesta superficie de respuesta ajustada a los datos que se obtienen de del diseño factorial correspondientes a TABLA 4.3, esta superficie generada por el programa se puede observar en la Figura 4.7.

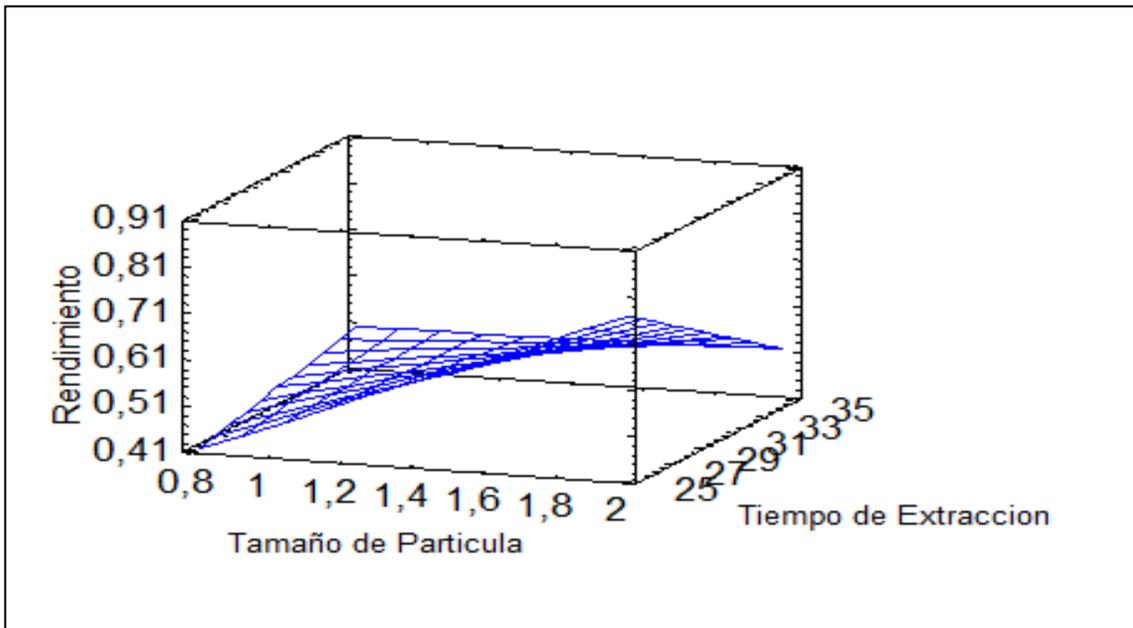


Figura 4.7. Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción por arrastre por vapor recomendada por statgraphicplus.

En base al análisis de los datos, sugiere las siguientes condiciones como mejores para el proceso de extracción con arrastre por vapor, cantidad de muestra 90 g, 2mm tamaño de partícula, 25 min tiempo de extracción.

En la TABLA 4.5, se muestran las 11 corridas, donde 4 corresponde a las combinaciones de los niveles establecidos en los rangos de operación, 3 corridas corresponden al punto central y las cuatro restantes pertenecen a los puntos axiales, que elige el programa de acuerdo a la rotabilidad establecida por $\alpha = F^{1/4}$ donde F es el número de puntos en la parte factorial de diseño $F=2^k$, para este caso $\alpha = 2^{1/4} = 1,414$.



TABLA 4.5

DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA ELABORACIÓN DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA

N°	Condiciones de operación		Resultados experimentales			
	Presión ($P \pm 0,1$)bar	Tiempo estatico ($T_e \pm 0,01$)min	Tiempo Dinámico ($T_d \pm 0,01$)min	Masa de envase vacío ($M_m \pm 0,0001$)g	Masa de envase con extracto ($M_m \pm 0,0001$)g	Rendimiento (% $R \pm 0,002$)%
1	100,0	30,00	10,00	32,5280	32,6590	0,131
2	110,0	30,00	22,07	35,0940	35,5430	0,449
3	110,0	30,00	7,92	34,6650	34,9980	0,333
4	110,0	30,00	15,00	34,8360	34,9540	0,118
5	110,0	30,00	15,00	35,3390	35,4550	0,116
6	120,0	30,00	10,00	33,0860	33,180	0,094
7	95,9	30,00	15,00	34,8300	34,9620	0,132
8	100,0	30,00	20,00	34,8190	34,9900	0,171
9	124,1	30,00	15,00	34,8010	35,2430	0,442
10	110,0	30,00	15,00	35,1830	35,2900	0,107
11	120,0	30,00	20,00	33,0190	33,1800	0,161

Dónde: temperatura de extracción $T = (40,1 \pm 0,1) ^\circ C$, caudal de $CO_2 = (2,5 \pm 0,1) L/min$; tiempo estático: 30 min



Una vez realizado el desarrollo experimental para el método de fluido supercrítico para la obtención de la superficie de respuesta, se introdujeron los datos en el paquete estadístico statgraphics plus, el cual arroja una ecuación ajustada a nuestros datos experimentales, en función de al porcentaje de rendimiento:

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendimiento} = & 8,23217 - 0,129892 * \text{Presión} - 0,190914 * \text{Tiempo dinámico} + \\ & 0,000612142 * \text{Presión}^2 + 0,000225 * \text{Presión} * \text{Tiempo dinámico} \\ & + 0,00591524 * \text{Tiempo dinámico}^2 \quad (1) \end{aligned}$$

La ecuación anterior corresponde a la superficie respuesta que se observa en la Figura 4.8, en donde se observa un punto máximo, que corresponde a las mejores condiciones de operación, ya que este busca estimar las condiciones que logran maximizar el rendimiento, en base a las variables más influyentes que se obtuvieron anteriormente, dejando fija el tiempo estático el cual se demostró que no es influyente en el proceso. Estas mejores condiciones vienen dada por una presión 124,142 bar y un tiempo dinámico 22,0711 min, manteniendo la variable no influyente (tiempo estático) en 30 min.

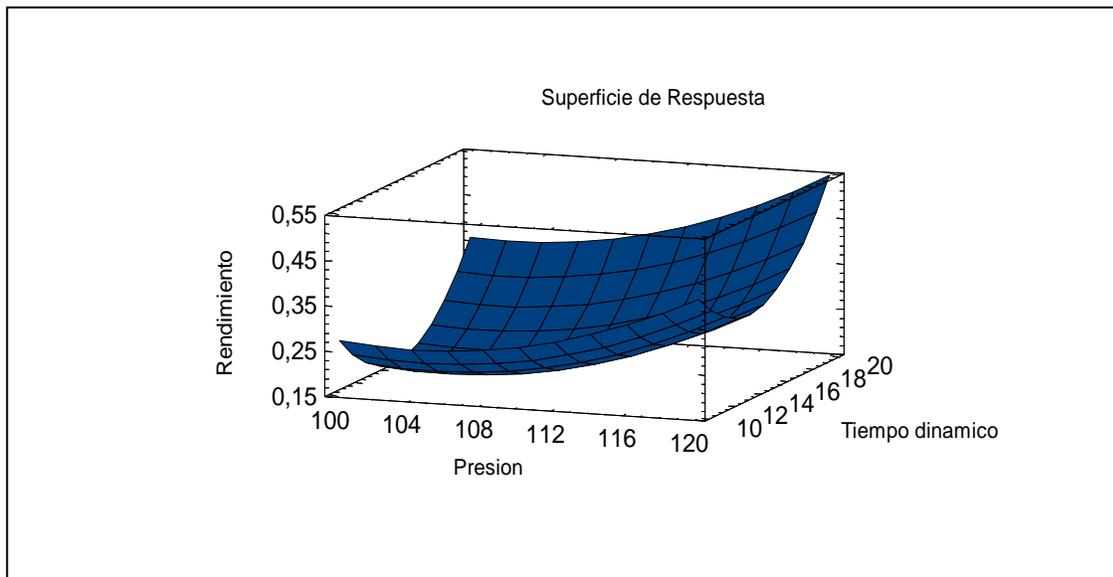


Figura 4.8 Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción supercrítica



4.3 EXTRAER EL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN EUREKA MEDIANTE ARRASTRE POR VAPOR Y FLUIDO SUPERCRÍTICO

Una vez conocidas mejores condiciones de operación para los métodos de extracción se procedió a realizar una corrida exhaustiva a las mejores condiciones operación. En el caso de la extracción con arrastre con vapor se utilizaron las condiciones sugeridas por el programa (cantidad de muestra 90 g, 2mm tamaño de partícula, 25 min tiempo de extracción) para ello se deja correr el tiempo de extracción una vez finalizados los 25 min se recolecto en un vial el aceite y se inició de nuevo el tiempo de extracción hasta que se dejó de obtener aceite, los datos reportados (TABLA 4.8).

En cuanto a fluido supercrítico se trabajó con una presión 124,1 bar y un tiempo dinámico 22 min, tiempo estático en 30 min, obtenida a través de la superficie de respuesta. Para ello se deja correr el tiempo estático y tiempo dinámico, se recolecto el aceite y se cambió el envase recolector esto se hizo igualmente que para arrastre por vapor hasta que no se obtuvo más aceite, los datos reportados (TABLA 4.7).

TABLA 4.6

RESULTADOS DE LA CORRIDA EXHAUSTIVA DE ARRASTRE POR VAPOR

Resultados Experimentales			
N	Masa de envase vacío (Mm±0,0001)g	Masa de envase con extracto(Mm±0,0001)g	Rendimiento (%R±0,002)%
1	2,4430	2,8046	0,602
2	2,4380	2,8214	0,639
3	4,3170	4,7276	0,684
4	2,3310	2,5224	0,319
5	2,4260	2,4308	0,008

Dónde: Cantidad de Muestra: CM= (90,0000±0,0001); tamaño de partícula: tp= (2±0,01)mm; Tiempo de extracción: te=(25±1)min



TABLA 4.7

RESULTADOS DE LA CORRIDA EXHAUSTIVA DE FLUIDO SUPERCRÍTICO

Resultados Experimentales			
N	Masa de envase vacío (Mm±0,0001)g	Masa de envase con extracto(Mm±0,0001)g	Rendimiento (%R±0,002)%
1	34,2960	34,7095	0,689
2	34,2440	34,6610	0,695
3	34,6920	35,1157	0,706
4	35,1790	35,6149	0,726
5	34,6890	35,1379	0,748
6	34,4790	34,8233	0,573
7	35,330	35,5400	0,350
8	28,4880	28,4934	0,009

Dónde: presión: P= 122 bar; Tiempo estático: te= (30±1) min; Tiempo dinámico: td= (22±1) min; Cantidad de muestra: CM= (60,0000±0,0001 g; Temperatura de extracción: T= (40±0,1) °C

A partir de las corridas exhaustivas, se tomaron los datos recolectado para el estudio del comportamiento de la masa total en función del tiempo de extracción como se puede observar en las Figuras 4.9 y 4.10 para cada método respectivamente.

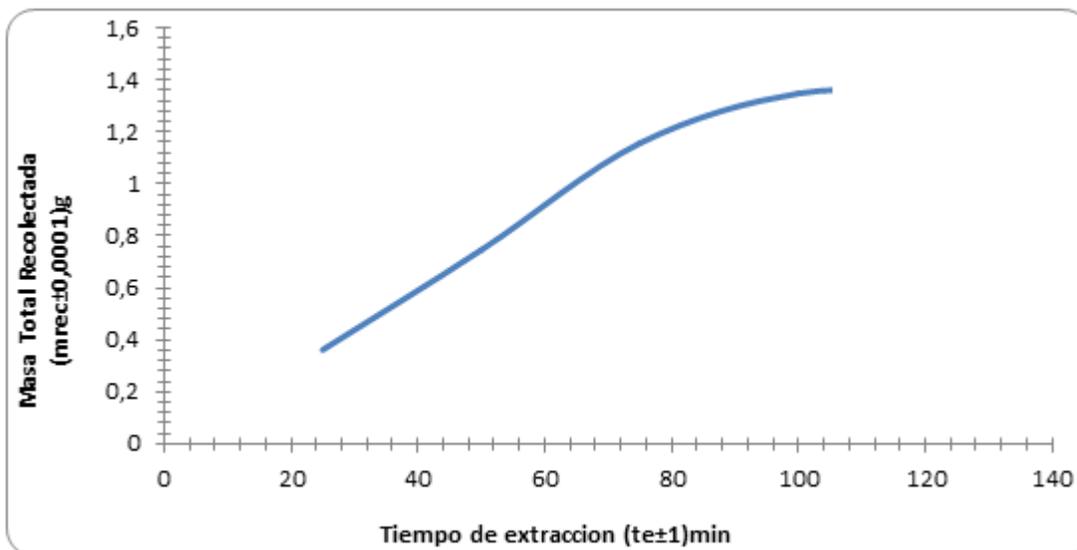


Figura 4.9 Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva por arrastre por vapor

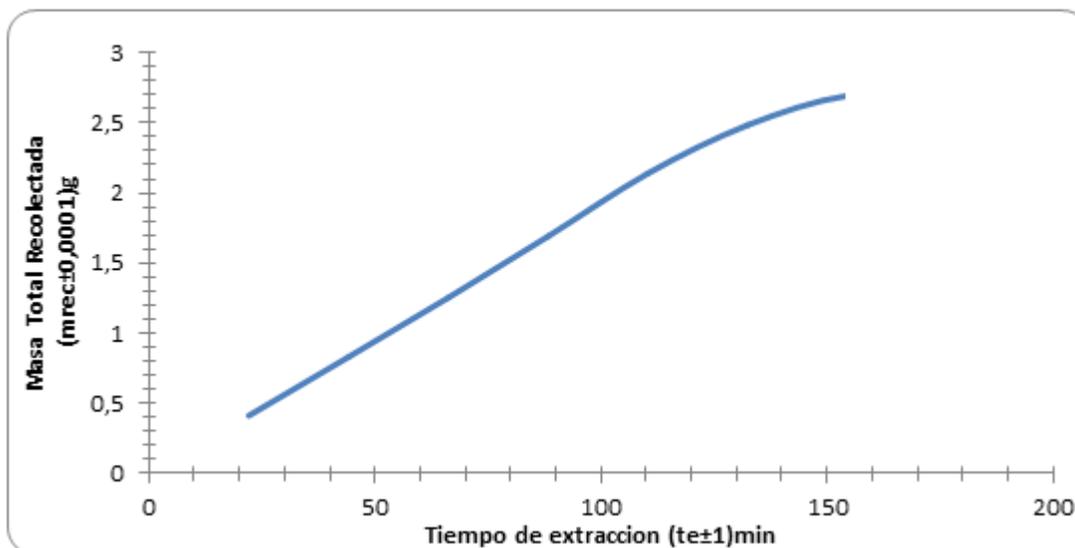


Figura 4.10 Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva por fluido supercrítico

Cada extracción obtenida por arrastre por vapor se trasvaso a un solo vial, del cual se obtuvo una masa total de $(1,3520 \pm 0,0001)$ g, mientras que las extracciones obtenidas a través de método de fluido supercrítico, fue necesario arrastrarlas con etanol de las paredes del envase recolector, posteriormente se



traspasaron a un cilindro graduado donde se pudo observar claramente la diferencia entre las fases, se separaron y se pesó la masa total ($2,25036 \pm 0,0001$) g.

4.4. IDENTIFICAR MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GAS CON DETECTOR DE MASA EL MAYOR NÚMERO POSIBLE DE COMPONENTES DE LA FRACCIÓN MÁS VOLÁTIL DEL ACEITE ESENCIAL

Para la caracterización del aceite esencial del limón Eureka se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masa y con una rampa de temperatura de 40°C por 2 min, luego aumento 6°C por minuto hasta llegar a 150°C ahí la temperatura se detuvo por 3 min, deteniéndose a los 23,3 minutos. Se les realizó este análisis a todas las muestras de aceite esencial de limón Eureka obtenidas por ambos métodos, esto debido a la carencia de data acerca de su composición. Esta información se clasificó mediante los siguientes parámetros: componente y porcentaje de área promediado con todas las corridas, fueron descartado aquellos componentes cuya probabilidad sea menor al 90%. Esta información se puede observar en la TABLA 4.10. Se pudo determinar más del 90% de los componentes de esta variedad entre los cuales se encuentran: monoterpenos, terpenos, alcoholes y aldehídos como se muestra en la TABLA 4.10. Se puede evidenciar que los componentes que se encuentran en mayor proporción son el limoneno, el anisole y el alfa terpineno Figura 4.11, tomando en cuenta que estos componentes se ven influenciados por diferentes factores como la posición geográfica, el clima, el tipo de tierra, la temporada en que se cosecha, el grado de madurez del fruto y el tratamiento que tenga dicha planta.

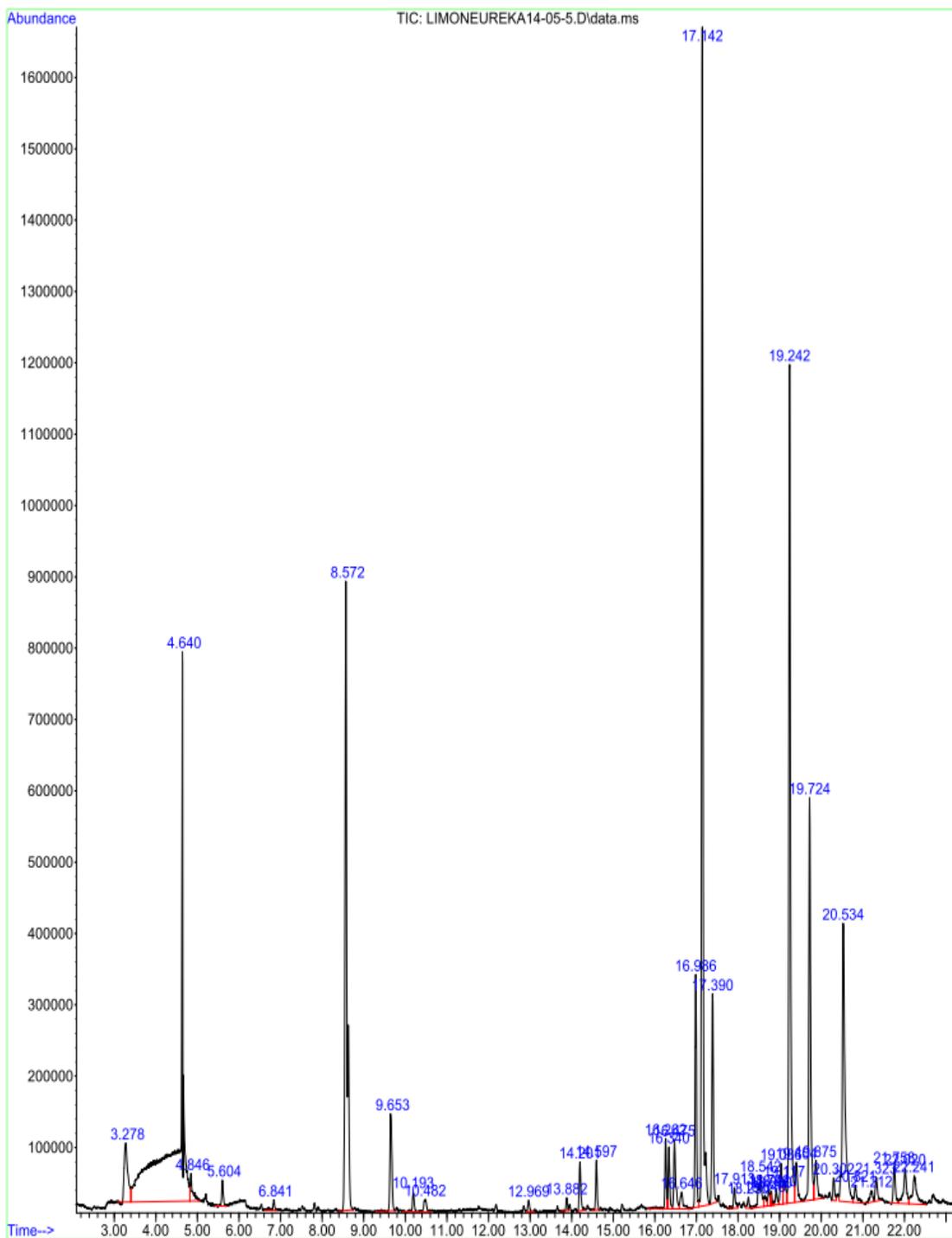


Figura 4.11. Cromatograma de limón Eureka



TABLA 4.8
RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN LOS COMPONENTES DEL ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN

NOMBRE IUPAC	SINÓNIMO	FORMULA	Limón Eureka (%)
(1S,5S)-2,6,6-Trimetilbicyclo[3.1.1]hept-2-eno((-)-α-Pineno)	1-S- α- pineno	C ₁₀ H ₁₆	0,95
(1R,5R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-eno((-)-α-Pineno)	1-R- α-pineno	C ₁₀ H ₁₆	1,643076923
6,6-dimetil- 2-metilenbicyclo [3.1.1] heptano	β - pineno	C ₁₀ H ₁₆	1,743846154
Bicyclo[3.1.0]hexano,4-metilen-1-(1-metiletil)	Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	2,001666667
ciclohexeno, 4-metileno-1-(1-metiletil)	β-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	1,445454545
-	D-limonene	C ₁₀ H ₁₆	44,08021429
1,4-ciclohexadieno ,1-metil-4-(1-metiletil)	α-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	9,712307692
benceno,1-metil-2-(1-metiletil)	cimeno	C ₁₀ H ₁₄	2,476666667
ciclohexeno ,1-metil-4-(1-metiletiliden)	terpinoleno, p-menta	C ₁₀ H ₁₆	1,84
6-octenal,3,7-dimetil	citronelal	C ₁₀ H ₁₈ O	0,5575
Decanal	decanal	C ₉ H ₁₉ O	0,220909091
etanona,1-(1,4-dimetil-3-cyclohexen-1-il)	-	C ₉ H ₁₄ O	0,055
bicyclo[3.1.1]hept-2-eno,2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil)	α-Bergamoteno	C ₁₅ H ₂₄	0,497
4,11,11-trimetil-8-metileno- bicyclo [7.2.0] undec-4-eno	caryofileno	C ₁₅ H ₂₄	1,283333333
benceno,2-metoxi-4-metil-1-(1-metiletil)	Anisol	C ₁₁ H ₁₆ O	8,503846154
3-ciclohexeno-1-acetaldehido,alfa,4-dimetil	Carvomentenal	C ₁₀ H ₁₆ O	0,7075
1,3-ciclohexadieno -1-carboxaldehido,2,6-trimetil	-	C ₁₀ H ₁₄ O	0,524285714
1,6,10-dodecatrieno,7,11-dimetil-3-metileno-(z)	(Z, E)-β-farneseno	C ₁₅ H ₂₄	0,26
1,4,7,-cicloundecatrieno,7,11-dimetil-3-metileno-(Z)	-	C ₁₅ H ₂₄	0,095
1H-benzociclohepteno,2,4a,5,6,7,8,9,9-hexahidro-3,5,5,9-tetremetil-R	β-Himachaleno	C ₁₅ H ₂₄	0,0925
naftaleno,1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa)-(+/-).-	β-cadineno	C ₁₅ H ₂₄	0,071666667



TABLA 4.8 (CONTINUACIÓN)
RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN LOS COMPONENTES DEL ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN

NOMBRE IUPAC	SINÓNIMO	FORMULA	Limón Eureka (%)
3-ciclohexeno-1-metanol, alfa.,.alfa. 4- trimetil	α -Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	1,5175
1-isopropil-4-metil-7-metilen-1, 2,3,4,4 a ,5,6,7- octahidronaftaleno	(+)-epi- Biciclosesquiphelandreno	$C_{15}H_{24}$	0,36
Ciclohexeno,1-metil-4-(5-metil-1-metilheno-4-hexenil)-,(S)-	beta-bisaboleno	$C_{15}H_{24}$	2,468888889
2,2-dimetil-3-metileno-biciclo[2.2.1]heptano	canfeno	$C_{10}H_{16}$	0,04
naftaleno,1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1metiletil)- (1s-cis)	δ -Amorfeno Cubeneno σ -cadineno δ -Cadieno	$C_{15}H_{24}$	0,33
6-octen-1-ol,3,7-dimethyl	Citronelol	$C_{10}H_{20}O$	1,577142857
naftaleno,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-4a,8-dimetil-2-(1- metiletilideno)-(4aR-trans)	3,7 (11)-Selinadieno; Selina-3, 7 (11)-dien	$C_{15}H_{24}$	0,144
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1- metiletiliden)	o-ment-8-eno	$C_{15}H_{24}$	0,35
Ciclotrisiloxano,hexametil	-	$C_6H_{18}O_3Si_3$	0,76
ciclotetrasiloxano,octametil	Siloxano D4	$C_8H_{24}O_4Si_4$	0,01



TABLA 4.8 (CONTINUACIÓN)
RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN LOS COMPONENTES DEL ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN

NOMBRE IUPAC	SINÓNIMO	FORMULA	Limón Eureka (%)
1,4-ciclohexadieno ,1-metil-4-(1-metiletil)	α -Terpineno	$C_{10}H_{16}$	1,62
ciclopentasiloxano, decametil	Siloxano D5	$C_{10}H_{30}O_5Si_5$	0,01
1,3,6-octatrieno,3,7-dimetil-,E,	beta ocimeno	$C_{10}H_{16}$	1,61
1,3,5,7-octatetraeno,2,6-dimetil-,E,	-	$C_{10}H_{14}$	0,06
benceno,1-etil,2,3-dimetil	3-Etil-o-xileno	$C_{10}H_{14}$	0,346153846
7-Metil-3-metileno-1,6-octadieno	β -mirceno	$C_{10}H_{16}$	0,531428571
otros compuestos	Otros		9,503111944



4.5 COMPARAR LAS CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO CON LAS OTRAS VARIEDADES DEL LIMÓN

TABLA 4.9
MATRIZ COMPARATIVA DEL LIMÓN EUREKA CON LAS OTRAS VARIEDADES DE LIMÓN

COMPUESTO	FORMULA	LIMÓN EUREKA (%)	SFUSATO DI AMALFI (%)	LIMONE DI SORRENTO (%)	SHAW LIMÓN (%)	DI VAIO LIMÓN (%)	KIRBASLAR AND BOZLIMÓN (%)	BENVENUTI LIMÓN (%)
1-S- alpha pineno	C ₁₀ H ₁₆	0,95	2,8	2,7	1,3	1,4	1,30	1,56
1-R-alpha pineno	C ₁₀ H ₁₆	1,64	-	-	1,5	-	-	-
beta pineno	C ₁₀ H ₁₆	1,74	19,4	16,5	2,2	15	0,744	10,052
Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	2,00	3,5	3,2	0,5	-	1,65	1,942
b-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	1,45	-	-	-	-	-	-
D-limoneno	C ₁₀ H ₁₆	44,08	49,2	55,9	54	75	75,6	65,016
a terpineno	C ₁₀ H ₁₆	9,71	0,2	0,1	0,7	-	0,672	-
Cimeno	C ₁₀ H ₁₄	2,48	-	0,1	-	-	-	-
terpinoleno, p-menta	C ₁₀ H ₁₆	1,84	-	-	0,6	-	0,39	-
Citronelal	C ₁₀ H ₁₈ O	0,56	0,1	0,1	0,03	-	0,07	-
Decanal	C ₉ H ₁₉ O	0,22	0,1	0,1	0,06	-	0,04	-
-	C ₉ H ₁₄ O	0,06	-	-	-	-	-	-
α-Bergamoteno	C ₁₅ H ₂₄	0,50	-	-	-	-	0,20	-
Caryofileno	C ₁₅ H ₂₄	1,28	0,3	0,2	0,3	-	-	0,478
Anisole	C ₁₁ H ₁₆ O	8,50	-	-	-	-	-	-
Carvomentenal	C ₁₀ H ₁₆ O	0,71	-	-	0,3	-	-	-
-	C ₁₀ H ₁₄ O	0,52	-	-	-	-	-	-
(Z, E)-β-farneseno	C ₁₅ H ₂₄	0,26	-	-	-	-	-	-
-	C ₁₅ H ₂₄	0,10	-	-	-	-	-	-
β-Himachaleno	C ₁₅ H ₂₄	0,09	-	-	-	-	-	-
β-cadineno	C ₁₅ H ₂₄	0,07	-	-	-	-	-	-
α-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1,52	0,6	0,4	0,2	-	-	-
(+)-epi-Bicyclosquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	0,36	-	-	-	-	0,05	-
beta-bisaboleno	C ₁₅ H ₂₄	2,46	0,5	0,4	0,14	-	0,5	0,841



TABLA 4.9 (CONTINUACIÓN)
MATRIZ COMPARATIVA DEL LIMÓN EUREKA CON LAS OTRAS VARIETADES DE LIMÓN

COMPUESTO	FORMULA	LIMÓN EUREKA (%)	SFUSATO DI AMALFI (%)	LIMONE DI SORRENTO (%)	SHAW LIMÓN (%)	DI VAIO LIMÓN (%)	KIRBASLAR AND BOZLIMÓN (%)	BENVENUTI LIMÓN (%)
Citronelol	C ₁₀ H ₂₀ O	1,577142857	-	-	-	-	0,15	-
3,7 (11)- Selinadiene; Selina- 3, 7 (11)-dien	C ₁₅ H ₂₄	0,144	-	-	-	-	-	-
o-ment-8-eno	C ₁₅ H ₂₄	0,35	-	-	-	-	-	-
-	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	0,76	-	-	-	-	-	-
Siloxano D4	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	0,01	-	-	-	-	-	-
α-Terpineno	C ₁₀ H ₁₆	1,62	0,2	-	0,7	-	0,672	-
Siloxano D5	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	0,01	-	-	-	-	-	-
beta ocimeno	C ₁₀ H ₁₆	1,61	-	-	-	-	0,12	-
-	C ₁₀ H ₁₄	0,06	-	-	-	-	-	-
3-Ethyl-o-xylene	C ₁₀ H ₁₄	0,346153846	-	-	-	-	-	-
β-myrceno	C ₁₀ H ₁₆	0,531428571	2	-	-	-	-	1,848
citronelol	C ₁₀ H ₂₀ O	1,577142857	-	-	-	-	X	-
3,7 (11)- Selinadiene; Selina- 3, 7 (11)-dien	C ₁₅ H ₂₄	0,144	-	-	-	-	0,15	-
o-ment-8-eno	C ₁₅ H ₂₄	0,35	-	-	-	-	-	-
camfeno	C ₁₀ H ₁₆	0,04	0,1	0,1	0,2	-	0,493	-
δ-Amorpheno	C ₁₅ H ₂₄	0,33	-	-	-	-	-	-



Al comparar los resultados experimentales (TABLA 4.9) con otras investigaciones como Poiana (2004), en el que estudiaron los componentes del aceite esencial de las variedades llamadas “Sfusato di Amalfi” y “Limone di Sorrento”, se puede observar variaciones en los componentes, por ejemplo, en las variedades de limón italiana tienen un número mayor de componentes en el extracto en comparación con el limón Eureka, existen semejanzas en algunos componentes como: limoneno, α -pineno el cual es utilizado en la manufactura de alcanfor, insecticidas, solventes, plastificantes, bases para perfumes, aceite de pino sintético, terpineol, terpinoleno, acetato de terpinilo y dipenteno, β -pineno el cual es utilizado como solvente en formulaciones para recubrimientos, pinturas y ceras, intermediario para resinas, camfeno, metol, aldehído camfolénico y terpineol; es usado como aditivo para aceites lubricantes. A través del beta- pineol se obtiene el Mirceno, uno de los químicos más importantes en la industria del perfume, citronelal el cual es usado en perfumería y como repelente de insectos, mircen que es un importante intermediario utilizado en la industria de perfumería, tiene un olor agradable, pero rara vez se utiliza directamente. Por tanto, se valora más como un intermediario para la preparación de productos químicos de sabor y fragancia como mentol, citral, citronelol, citronelal, geraniol, nerol y linalol. El mirceno se convierte también en mircenol, otra fragancia encontrado en lavanda, a través de no catalizada hidroaminación de la 1,3-dieno seguido por hidrólisis y Pd-catalizada eliminación de la amina. β -bisaboleno está aprobado en Europa como aditivo alimentario. Bisabolenos son intermediarios en la biosíntesis de muchos compuestos químicos naturales, incluyendo hernandulcin, un edulcorante natural, α -terpineno, etc. De la misma forma el aceite esencial del limón Eureka contiene componentes que las dos variedades nombradas anteriormente no contienen como: citronelol que se utiliza en la fabricación de perfumes y repelentes de insectos, es uno de los ingredientes para la fabricación de cremas hidratantes. También es una materia prima para la producción de óxido de rosa, es antiséptico, antibacteriano, fungicida, herbicida, insecticida.



La FDA de Estados Unidos considera el citronelol como seguro para uso alimentario. El β -terpineno un componente importante de los aceites esenciales hecha a partir de frutas cítricas, sabor y aroma de alimentos. El anisol que es un precursor de los perfumes, feromonas de insectos y productos farmacéuticos. Por ejemplo, el anetol sintético se prepara a partir de anisol. El cimeno es importante en la industria química, principalmente como disolvente en pinturas industriales y barnices, resinas sintéticas, producción de orto-cresol, se utiliza como perfumes y fluido térmico. Demostrando así la amplia gama de aplicaciones industriales que tienen estos componentes que conforman el aceite esencial del limón Eureka(Ortuño 2006).

En contraste Shaw(1979), realizó una compilación de los componentes y valores del aceite esencial de varios cítricos como: la naranja dulce, toronja, mandarina, limón, lima y algunos injertos, los cuales se extrajeron por el método de prensado en frío y se caracterizó mediante una Cromatografía de gases, se puede agregar que a pesar de la data antigua de este antecedente, es el único que aporta información relevante en cuanto a los componentes del aceite esencial de esta variedad de limón. Para realizar esta matriz comparativa solo será utilizado los datos que se obtuvieron del limón ya que los aceites esenciales de los otros cítricos solo sirven como una referencia. Puede evidenciarse (Apendice B), que el numero componentes encontrados en el aceite esencial del articulo antes mencionado es mucho mayor al que se encontró en el limón Eureka, encontrándose compuestos como: Citrales un compuesto de aroma utilizado en perfumería por su efecto de cítricos, también se utiliza como un sabor y para enriquecer el aceite de limón. También cuenta con fuertes cualidades de antibióticos , y los efectos de feromonas en insectos, que no fueron encontrados en el aceite esencial del limón Eureka, cabe agregar que existen semejanzas en algunos compuestos como: citronelol, α -pineno, β -pineno, limoneno, citronelal, decanal, etc. Y existen diferencias: anisol, α -terpineno y β -mirceno, que en la discusión anterior fueron dichas sus aplicaciones industriales (TABLA 4.9)(Ortuño 2006).



No obstante, estudios de Di Vaio *et al.* (2010), determinaron la composición de los aceites esenciales y la actividad antioxidante del extracto de etanol de la piel del limón para lo cual analizaron 18 variedades, procedentes de Sicilia y Campania, tomaron una muestra de 60 frutos por variedad. Los extractos alcohólicos obtenidos para cada cultivo fueron analizados por su actividad antioxidante con el ABTS ensayo y composición del aceite esencial mediante GC/FID. Demostraron que no hay una relación clara entre la actividad antioxidante y la composición del aceite esencial de los extractos. Debido a que a que este artículo se enfocó más en la relación de la composición del aceite esencial y la actividad antioxidante, se observa que los componentes que encontraron en estas variedades de limón fueron: myrceno, β -pineno, limoneno, γ -terpineno y n-dodecano. Existiendo las diferencias del aceite esencial del limón Eureka no tiene n-dodecano y γ -terpineno, y los componentes como citronelol, anisol, α -terpineno y β -mirceno que están presentes en el limón Eureka, no se encuentran en las variedades de limón que fueron objeto de estudio en el artículo (TABLA 4.9) (Ortuño 2006).

Análogamente, investigaciones de Kirbaslar and Boz (2006) realizaron la extracción de aceite esencial de la cáscara del limón y toronja, utilizando el método de extracción fue prensado en frío. Los aceites se analizaron mediante Cromatógrafo de gases de alta resolución (HRGC) y un Cromatógrafo de gases de alta resolución con Espectrómetro de masas (HRGC/MS). En total 42 y 27 componentes han sido identificados en los aceites esenciales de limón y toronja respectivamente. Al igual que en la sección anterior solo se tomaran los datos del limón. En este artículo el número de componentes que se obtuvieron del aceite esencial del limón es mucho mayor al que se obtuvo para el Limón Eureka y como en los casos anteriores existen semejanzas y diferencias entre ambas variedades por ejemplo en el limón Eureka existen componentes como el citronelal, citronelol, α -pineno, limoneno, etc, que son semejantes a la otra variedad de limón, también existen componentes como: ocimeno, α -tujeno, β -selineno, limonenediol, nerol, neral, nonanal, que en el limón Eureka no están o no forman parte del aceite esencial, por otra parte se puede decir que componentes como: el anisol, β -



terpineno, cariofileno, β -mirceno, en la variedad estudiada por no están (TABLA 4.9)(Ortuño 2006).

Así mismo Benvenutiet *al.* (2000), realizaron un proceso de extracción semicontinua del aceite esencial del limón por el método de fluido supercrítico. El proceso semicontinuo experimental se modeló suponiendo que la fase de vapor sale del aparato siempre en equilibrio con la fase líquida dentro del recipiente, y las condiciones de equilibrio se representa por la ecuación de estado de Peng y Robinson. En particular, el sistema de "aceite de limón natural" se redujo a una mezcla de algunos de los componentes principales, limoneno, γ -terpineno; citral; linalol, y β -cariofileno. En consecuencia, la caracterización termodinámica del sistema se extendió a estudiar un proceso continuo algo más complejo. Como un ejemplo de simulación de un estado estacionario de una columna de varias etapas con reciclaje de solvente. Como puede observarse los componentes del aceite esencial del limón que se utilizo en este artículo tiene un número muy reducido de componentes en comparación con los del aceite esencial como.citronelol, anisol, α -terpineno y citronelal (TABLA 4.9)(Ortuño 2006).

Para dar un valor agregado a este trabajo especial de grado, se realizó una investigación acerca de algunas de las aplicaciones que tiene el aceite esencial del limón Eureka, encontrando que en la Costa de Amalfi y Sorrento de la península itálica, utilizan esta variedad para la fabricación de manera artesanal de un licor dulce llamado "Limoncello", básicamente es un licor muy económico y sencillo de producir por los bajos costos de sus ingredientes. Es uno de los licores Italianos mas conocidos ya que es muy utilizado en la gastronomía italiana, para la elaboración de postres, dulces y cocteles por su alto poder aromatizante, no solo es un licor muy consumido y habitual en las cartas de los restaurantes italianos sino que cada vez es mas frecuentes encontrarlo en restaurantes de otros países, España, Reino Unido incluso en Estados Unidos y Australia. En realidad, en toda el área existen muchas variantes de antiguas fórmulas tradicionales que, transmitidas de generación en generación, solo difieren entre sí en pequeños detalles, las cantidades de los ingredientes o los procedimientos de preparación.El



limoncellose obtiene sumergiendo la cascara de 1 kg limón en 1 L de etanol al 99% en un frasco de vidrio con tapa y por medio de la maceración se extrae el aceite esencial por periodo de 1 mes, durante este tiempo ocurre una extracción solido liquido que permite que todo el aceite esencial proveniente de la cascara sea extraído, es importante que durante este tiempo el frasco este en un lugar fresco y que oscuro, luego de culminado el mes se procede a preparar un almíbar con 1 kg de azúcar y 1^{1/2} L de agua, calentando este almíbar hasta que comience el proceso de ebullición y luego dejar reposar hasta que alcance temperatura ambiente, Luego el producto de la maceración es filtrado para eliminar trazas o partículas de la cascara del limón, para finalmente mezclar el almíbar ya preparado con el alcohol filtrado, luego esta mezcla se embotella y se deja reposar por 5 días aproximadamente y luego se ingresa en una nevera ya que el Limoncellose sirve muy frío y en pequeños vasos de cerámica después de las comidas o en el postre. Las bondades del limoncello se deben principalmente a su naturalidad, su gusto indiscutido de la cascara de limón, la ausencia de colorantes, aditivos, conservantes y su virtud de hacerlo factible en cualquier hogar.



Figura 4.12. Limoncello



CONCLUSIONES

1. Las variables en el proceso de extracción con arrastre por vapor no son influyentes en el proceso.
2. Las variables más influyentes el proceso de extracción con CO₂ supercrítico son el tiempo dinámico y la presión.
3. Las mejores condiciones de operación para la extracción arrastres por vapor supuestas por el paquete estadístico fueron: cantidad de muestra 90 g, 2 mm tamaño de partícula, 25 min tiempo de extracción.
4. Las mejores condiciones de operación para la extracción con CO₂ supercrítico obtenidas a través de la realización de la superficie de respuesta son: presión 124,1 bar y un tiempo dinámico 22 min, tiempo estático en 30 min.
5. El limón Eureka está compuesto principalmente por: D-limoneno, anisole, alfa terpineno.
6. El limón Eureka en comparación con las otras variedades de Limón, Limón Burm, Sfusato di Amalfi y Limone di Sorrento, tiene algunos componentes del que estos carecen como: el citronellol, beta terpineno y anisole.
7. El limoneno fue el principal componente del Limón Eureka.
8. Se han detectado un total de 38 componentes del aceite esencial del limón Eureka.



RECOMENDACIONES

1. Se sugiere no realizar un diseño factorial para el método de extracción por arrastre con vapor, debido a que es difícil mantener las mismas condiciones durante todo el proceso, lo que generó datos sesgados.
2. Colocar el equipo de extracción de arrastre con vapor en lugar donde no se limite la altura del montaje con el fin de reemplazar el condensador vertical por uno más grande con el fin de mejorar el rendimiento.
3. Solicitar la asignación de un técnico para los equipos del laboratorio de extracción.
4. Se sugiere cambiar el diseño del equipo de extracción con fluido supercrítico a fin de disminuir los costos de operación, recirculando el CO_2 utilizado.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albaladejo, Q. (1999). El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales. Tesis Doctoral publicada. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. España.
2. Alexander, W., Brusewitz, G. and Maness, N. 1997. "Pecan oil recovery and composition as affected by temperature, pressure, and Supercritical CO₂ flow rate". *Journal of FoodScience*. 62 (4):762-766.
3. Alfonso, R. (2000). Remington: Farmacia. Editorial Medica Panamericana, vigésima edición. Uruguay. Pág. 686
4. Aedila, M., Vargas, A., Mejía, L. (2009). Evaluación De Aceites Esenciales Del *Alliumsativum*, *Coriandrumsativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanumvulgare*, *RosmarinusofficinalisyThymusvulgaris* como Posibles Antioxidantes y Conservantes en el Salami. Vector volumen 4, pp 95-106.
5. Atkins, P. y Jones, I. (2006). Principios de química: los caminos del descubrimiento. Editorial Medica Panamericana, S.A., tercera edición. Buenos Aires. Argentina. Páginas 326-327 y 702.
6. Atti-Santos, A., Rossato, M., AttiSerafini, L., Cassel, E and Moyna, P. (2005). Extraction of Essential Oils from Lime (*Citrus latifoliaTanaka*) by Hydrodistillation and Supercritical CarbonDioxide. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Volumen 48. N1: pp. 155-160.
7. Avilan, L. y F. Leal. 1996. El comercio mundial de frutales y las perspectivas de la fruticultura nacional. Maracay. Instituto de Investigaciones Agronómicas. CENIAP-FONAIAP. 36 p. (Serie C. N° 41).
8. Bandoni, A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Primera Edición. Cytel. Argentina
9. Baraona, M., Sancho, E. 1991. Cítricos Fruticultura Especial. San José – Costa Rica. Universidad Estatal a Distancia. pp. 15.
10. Barquero, M. (2006) Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases. Editorial Universidad de Costa Rica. Pág. 13.



11. Benvenuti, F., Gironi, F. and Lamberti, L. (2001). Supercritical deterpenation of lemon essential oil, experimental data and simulation of the semicontinuous extraction process. ELSEVIER. Journal of Supercritical Fluids. Volumen 20. Pp 29-44.
12. Bernardo-Gil, G., Ribeiro, A and Esquivel, M. 2002. "Produção de extractos para la industria alimentaria: uso de fluidos supercríticos". Boletín de biotecnología. (73):14-21.
13. Briga J. (1962). Los aromáticos en la industria moderna. 2ª edición. Editorial Sintesis, Barcelona, España
14. Brophy, J. and Doran, J. C. 1996. Essential oils of tropical Asteromyrtus, Callistemon and Melaleuca species. (ACIAR) Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. Australia
15. Butterfield, H.M. (1963). A history of subtropical fruits and nuts in California. Univ. Calif. Div. Agric. Sci., Berkeley. pp.57.
16. Cano, T., Chávez, B., Godínez, J y Monzón, D. (2002). Obtención y Caracterización Del Aceite Esencial Y Oleoresina De La Pimienta Negra (*Piper nigrum* L.) Cultivada En Guatemala. Una Alternativa De Desarrollo Agroindustrial Para El Agricultor Guatemalteco. Trabajo especial de grado no publicado. Centro de Investigaciones de Ingeniería. pp, 7-29. Guatemala
17. CBI, (2005). Natural Ingredients for Cosmetics. EU Market Survey. ProFound, 2005. pp 32-52.
18. CBI (2004). Food Ingredients for Industrial Use. Market Survey. ProFound. 2004. Pp. 46-72.
19. Cerpa, M. (2007). *Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización*. Tesis doctoral publicada, Universidad de Valladolid, México.
20. Cerutti, M., Neumayer, F. (2004). Introducción a la Obtención de Aceite Esencial de Limón. Invenio volumen 7, numero 012 pp. 149-155. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano.
21. Chávez, S. Rivas, M. (2003). *Desarrollo de un repelente para insectos a base de aceite esencial de limón*. Trabajo especial de grado no publicado, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Venezuela.



22. Cerutti, M. y Neumayer, F. (2004). Introducción a la Obtención de Aceite Esencial de Limón. Redalyc, volumen 7 numero 12 pp. 149.155.
23. Contreras, V. (2010). Implementación a nivel de laboratorio de una unidad de extracción de volátiles por radiación de microondas. Trabajo especial de grado. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico Durango. Pp 7.
24. Cornell, J. (1990). How to apply response surface methodology. American Society for Quality Control. Milwaukee, WI.
25. Di Vaio, C., Graziani, G., Gaspari, A., Scaglione, G., Nocerino, S., Ritieni, A. (2010, Junio). Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. *Scientia Horticulturae*, 126, 50–55, obtenido el 15 de mayo de 2011 de la base de datos del IVIC.
26. Escobar, A. (2011). Diseño y Puesta en Marcha de una Planta Piloto de Arrastre con Vapor para la Obtención de Aceites Esenciales. Trabajo especial de grado no publicado, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Venezuela.
27. Espinosa, S. (2001). Procesamiento Supercrítico de Productos Naturales Modelado, Análisis y Optimización. Tesis Doctoral de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur, Argentina. PP 1-17
28. F.A.O. 1994. Situación y perspectivas de los productos básicos, 1993/1994. Roma. Desarrollo económico y social. Colección FAO N° 52. 172 p.
29. Fernández, D. y Fernández, R. 1997. "Fluidos supercríticos". *Ciencia hoy*. 8(43) [Documento en línea]. <http://www.cienciahoy.org.ar/hoy43/fluid3.htm>. consultado en Agosto de 2011.
30. Fernández, M., Manosalva, A. (2009). Desarrollo de un producto cosmético a base del aceite esencial de limón. Trabajo especial de grado no publicado, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Venezuela.
31. Franceschi, E. *et al.* (2004). Phase behavior of lemon and bergamot peel oils supercritical CO₂. Obtenido el 10 de Julio de 2011 desde <http://www.sciencedirect.com/science>.



32. Gallego, I. y Castañeda, D. 2004. Diseño conceptual de un sistema de extracción supercrítica, a escala banco, utilizando dióxido de carbono como solvente. Universidad de EAFIT. Resumen de los trabajos de grado desarrollados en ingeniería de procesos durante el año 2003. Medellín. pp. 46-53.
33. Guenther, E. (1972). The essential oils, Vol. I. Robert E. Krieger Publishing Company, New York
34. Guillen, C. y Hernández, A. (2003). Evaluación del rendimiento de tres procesos de extracción diferentes para la obtención de esencia de piña (*Ananas comosus*): trabajo especial de grado no publicado. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo.
35. Günther, E. (1948). The Essential Oils. Vol.1: History and origin in Plants Production Analysis. Krieger Publishing: New York, USA.
36. Guignard, J., Cosson, L., Henry, M.; "AbregedePhytochimie", Masson, Paris-New York-Barcelone, 1985, Capítulo 8.
37. Herrero, M., Cifuentes, A. & Ibañez, E. 2006. "Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food by products, algae and microalgae". A review. Food chemistry 98: 136-148.
38. Imison, B. and Unthank, D. (2000). Adding Value to Essential Oils & Other Natural Ingredients. Rural Industries Research & Development Corporation. 00,1.
39. Ismail, S. y Ismail, B. (2005). Composition of Turkish Lemon and Grapefruit Peel Oils. Journal of Essential Oil Research 18, 525-543.
40. Larosa, A. 1992. Estudio del mercado europeo para las exportaciones de frutas y hortalizas frescas de los países del Pacto Andino. Lima. Junta Acuerdo de Cartagena. 93 p.
41. Laencina, J.; Calvarano, M. y Micali, G. (1980). El aceite esencial de Limón Verna. Ess. Deriv. Agrum., L (4), 311-323.
42. Loewenfeld, C. & Back, P. (1980). Guía de las hierbas y especias. Ediciones Omega. Barcelona.



43. Lopez, G. (2006). Extracción y Caracterización de los Aceites Esenciales de las Cortezas de Mandarina y Limón. Trabajo especial de grado no publicado. Escuela Politécnica Nacional. Quito. Ecuador. pp 57-68.
44. Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). Fotoquímica orgánica. Editorial Torino, segunda edición. Caracas. Venezuela. Páginas 55, 57 y 237-373.
45. Marín, J. y Ojeda, M. (2005). Desarrollo de un proceso de extracción de aceite esencial de Clavel de la India (*Tabernaemontana divaricata*) con dióxido de carbono (CO₂) supercrítico para la producción de fragancias. Trabajo especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia, Venezuela.
46. Martínez, A. (2001). Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. pp 1- 34.
47. Matute, J. y Quiroga, F. (2003). Factibilidad Técnico-Económica de una Planta Piloto para la Obtención de Aceite Esencial de Mastranto (*Hyptis suaveolens*). Trabajo especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia, Venezuela.
48. Mohamed, R. (1997). "Extração e fracionamento de productos de ocorrência natural con fluidos supercríticos". Ciência y tecnología de alimentos. [Documento en línea]. <http://www.scielo.br>. Consultado Septiembre de 2011
49. Montgomery, D., Runger, G. (1996). Probabilidad y estadística aplicada a la ingeniería. Editorial Mc Graw- Hill. Primera edición. Mexico D.F.
50. Morín, Ch. (1980). Cultivo de los cítricos. Lima. Editorial IICA. 508 p.
51. Mukhopadhyay, M. (2000). Extractos naturales usando dióxido de carbono supercrítico. Pag 11. Editorial CRC Press. Boca Ratón, Florida.
52. Muñoz, F. Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, cultivo y procesado. 2002, 4ª Reimpresión. Ediciones Mundi-Prensa: Madrid, España.
53. Olaeta, J., Umdurraga, P. y Larenas, A. Evolución de Citral y Limoneno en el Aceite Esencial de Limón (*Citrus limón* (L) Burm.) en Variedades Eureka y Génova. Semente, volumen 72 (1-2). pp, 32 – 34.



54. Olaya, M., Méndez, J. Guías de Plantas y Productos Medicinales. UPAR. Convenio Andrés Bello. Bogotá. pp. 14-23.
55. Oliveira, Leitao, G. G; Santos, S. S.; et al, (2006). D.R; Ethanopharmacological study of two *Lippia alba* species from Oriximina, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 2006, 108, pp 103-108.
56. Ortuño, M. (2006) Manual práctico de aceites esenciales, aroma y perfumes. Editorial Aiyana, primera edición. (pp. 7, 9,10). España.
57. Palomino, A. (2003). Construcción modular de un equipo de extracción supercrítica de aceites esenciales y avances en el modelo matemático. Consejo Superior de investigaciones. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Boletín 50. [Documento en línea]. <http://www.csi.unimsm.edu.pe>. Consultado en Septiembre de 2011.
58. Parry, E. J. The Chemistry of Essential Oils and Artificial Perfumes. 4th Edition. Van Nostrand Co., NY, USA, 1921.
59. Pérez, D. (2011). Estudio de la variación de la composición química del aceite esencial de mastranto (*Hyptissuaveolens*) según su origen geográfico en el estado Yaracuy. Trabajo especial de gradopublicado. Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Venezuela.
60. Peter, K.V. Handbook of Herbs and Spices. 2004, Woodhead Publishing Limited: London, England
61. Pinder, A. 1960. The Chemistry of the Terpenes. Chapman and Hall.
62. Poiana, M. (2004). Alcoholic Extracts Composition from Lemon Fruits of the Amalfi-Sorrento Peninsula. *Journal of Essential Oil Research* 18,432-437.
63. Prager, M. y Miskiewicz, M. (1982). Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis, Identification and Detection of adulteration of Natural and Concentrated Lemon Oils. *J.Assoc. Off. Anal. Chem.* vol. 65, 166-171.
64. Raventós, M, Duarte, S. and Alarcón, R. 2002. "Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry": An overview. *FoodSci. Tech. Int.* .8(5):0269-0284.



65. Reyes, Y., Yamada, C. (1985). *Rendimiento y características del aceite esencial de dos variedades de naranja (Citrus síntesis (L) Osbeck): Chilena y Valencia en distintos estados de madurez*. Tesis publicada, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
66. Ribeiro, O., Alva, A. y Marreros, J. (2001). Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial De Jengibre (*Zingiber officinale*). Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, volumen 1 n° 1. PP. 38-42.
67. Ricci, E., Padín, S., Kahan, A y Ré S. (2002). Efecto repelente de los aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) en repollo. Bol. San. Veg: Plagas, volumen 28. pp. 207-212.
68. Rozzi, N. and Singh, R. (2002). "Supercritical fluids and the food industry". Comprehensive reviews in food science and food safety. 1: 33-44.
69. Rozzi, L., Phippen, W., Simon, J. y Singh, R. (2001). Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 35, 319–324 (2002).
70. Rueda, X., Lugo, L. y Parada, D. (2007). Estudio del Aceite Esencial de la Cáscara de la Naranja Dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) Cultivada en Labateca (Norte de Santander Colombia). Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, volumen 5 número 001. pp 2-8.
71. Saldaño, H. (2009). *Tesis de grado. Metodología de la investigación*. MailxMail.com. Información en línea. Consulta: Septiembre, 2010. Disponible en: <http://www.mailxmail.com/autor-osmar-horacio-saldaao>
72. Sattar, A.; Mahmud, S. y Khan, S. (1986). Part. I. Composition of the monoterpenes of the peel oils of oranges, kinnows and lemons. Pakistan J. Sci. Indust. Res., 29, 196-198.
73. Sánchez, F (2006). Extracción de Aceites Esenciales. II congreso Internacional de plantas medicinales y aromáticas. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. pp 1-8.
74. Seied, M., Mahdi, P. (2007, Septiembre). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. Journal of Chromatography A, 1163, 2-24, Obtenido el 23 de junio de 2011 de <http://www.sciencedirect.com/science>.



75. Shaw, P. (1979). Review of Quantitative Analyses of Citrus Essential Oils. J. Agric. Food Chem. Volumen 27 numero 2.
76. Sosa, F. Mendt, L., Avilan, K., Gomez, F., Ochoa, R. (1992; Septiembre). Behavior of limes and lemons budded on Volkamer lemon in Venezuela. Proceedings of the International Society of Citriculture. 1. 252-255. obtenido el 15 de mayo de 2011 de la base de datos del IVIC.
77. Statgraphics Plus versión 5.1 Software estadístico.
78. Teuscher, E. Anton, R. Lobstein, A. (2005) Plantes Aromatiques. Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Paris, France.
79. Vanaclocha Vanaclocha, B. (1994). Fitoterapia, vademecum de prescripción. Plantas medicinales. CITA, Publicaciones y documentación.
80. Vargas y Bottia (2008). Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y El Peñón- Santander, Colombia. Universidad Ind. De Santander (Escuela Química).
81. Velasco J., Rojas J., Salazar P., Rodríguez M., Díaz T., Morales A., Rondón M. (2007.) Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia oreganoides* Against Multiresistant Bacterial Strains of Nosocomial Origin. NatProdComun. 2 (1):85-88.
82. Vigilancia competitiva de limón, (2010). Instituto de mercadeo agropecuario, [documento en línea]. Disponible: foostat.fao.org-ams.usda.gov. Consultado: 2011, marzo 16
83. Weiss, E. A. (1997). Essential oil crops. CAB International, Oxford
84. Zorrilla, S. (1993), Introducción a la metodología de la investigación. Editorial Aguilar, León y Cal Editores, onceava edición. (pp. 43). México.



APÉNDICE A. CÁLCULOS TÍPICOS

En esta sección se muestran los modelos matemáticos que se utilizaron para el desarrollo y alcance de los objetivos que fueron planteados en el presente trabajo especial de grado, así como los cálculos típicos involucrados en el análisis estadístico.

- **Determinación de cada uno de los factores que se muestran en el análisis de varianza (ANOVA, ver tabla 4.3) arrojado por el software estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5.1.**

1 Cálculo de la suma de cuadrados (SS_A).

Representa la variabilidad total de los datos. Se determina mediante el siguiente modelo matemático:

$$SS_A = \frac{\text{Contraste}_A^2}{2^K * n} \quad (1)$$

Dónde:

Contraste_A : respuesta total de cada una de las combinaciones de factores.

K: número de factores.

n : número de observaciones por efecto.

1.1 Cálculo del contraste

$$\text{Contraste}_A = [a+ab+ac+abc-(l)-b-c-bc] \quad (2)$$

Dónde:

a, ab, ac, abc, (l), b, c y bc: representan el total de todas las n observaciones en cada una de las 8 corridas del diseño experimental.

$$\text{Contraste}_A = [0,9980+0,8375+0,8194+0,7028-0,0151-0,8392-0,8210-0,6889] = 0,9935$$

Sustituyendo en la ecuación (1)

$$SS_A = \frac{0,9935}{2^3 * 2} = 0,06209$$



1.1 Calculo de los grados de libertad (GL).

Se determina restando la unidad al número de niveles de la siguiente manera:

$$GL = a - 1 \quad (3)$$

Dónde:

a : Cantidad de niveles del factor

$$GL = 2 - 1 = 1$$

1.2 Calculo de la media de cuadrados (MS_A)

Representa la relación entre la suma de cuadrados de los factores y los grados de libertad.

$$MS_A = \frac{SS_A}{GL} \quad (4)$$

Sustituyendo los valores en el modelo matemático:

$$MS_A = \frac{0,06209}{1} = 0,06209$$

1.3 Calculo del error cuadrático medio (MS_E)

Se calcula mediante el siguiente modelo matemático:

$$MS_E = \frac{SS_E}{a * b * c(n - 1)} \quad (5)$$

Dónde:

SS_E : suma de cuadrados del error cuadrático.

b : cantidad de niveles del factor B.

c: cantidad de niveles del factor C.

Sustituyendo los valores correspondientes:

$$MS_E = \frac{0,1314}{2 * 2 * 2(2 - 1)} = 0,0164$$



1.4 Calculo del factor de Fisher (F_0)

Representa el grado de significancia del factor en estudio

$$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E} \quad (6)$$

Dónde:

MS_A : media de cuadrados

MS_E : error cuadrático medio

Sustituyendo los valores en el modelo matemático:

$$F_0 = \frac{0,06209}{0,0164} = 3,7859$$

1 Calculo del rendimiento de la extracción

Se determina mediante el siguiente modelo matemático:

$$\%R = \left(\frac{m_{ell} - m_{ev}}{m_M} \right) * 100 \quad (7)$$

Dónde:

$\%R$: porcentaje de rendimiento

m_{ev} : masa del envase vacío (g)

m_{ell} : masa del envase lleno (g)

m_M : masa de la muestra (g)

Sustituyendo los valores en este modelo matemático:

$$\%R = \left(\frac{32,659 - 32,528}{60} \right) * 100 = 0,2183$$

El error asociado a dicho rendimiento se realiza de la siguiente manera:

$$\Delta\%R = \left| \frac{\partial\%R}{\partial m_{ev}} \right| * \Delta m_{ev} + \left| \frac{\partial\%R}{\partial m_{ell}} \right| * \Delta m_{ell} + \left| \frac{\partial\%R}{\partial m_M} \right| * \Delta m_M$$

Derivando la ecuación:

$$\Delta\%R = \left| \frac{-1}{m_M} * 100 \right| * \Delta m_{Mev} + \left| \frac{-1}{m_M} * 100 \right| * \Delta m_{ell} + \left| \frac{-(m_{ell} - m_{ev})}{m_M} * 100 \right| * \Delta m_M$$



$$\Delta\%R = \left| \frac{-1}{60} * 100 \right| .* 0,0001 + \left| \frac{-1}{60} * 100 \right| .* 0,0001 + \left| \frac{-(32,659 - 32,528)}{60} * 100 \right| .* 0,0001 = 0,000352 \approx 0,0004$$

De esta manera el valor del rendimiento queda reportado de la siguiente manera:

$$\%R = (0,2183 \pm 0,0004)\%$$

2 Cálculo de la masa recolectada en la corrida exhaustiva.

Se utiliza la siguiente ecuación:

$$m_r = m_{ell} - m_{ev} \quad (8)$$

Dónde:

m_r : masa de extracto recolectado (g).

Sustituyendo los valores:

$$m_r = 32,659 - 32,528 = 0,131 \text{ g}$$

El error asociado a la masa recolectada es:

$$\Delta m_r = \Delta m_{ell} + \Delta m_{ev}$$

Sustituyendo los valores en la ecuación:

$$\Delta m_r = 0,0001 + 0,0001 = 0,0002$$

De esta manera el valor se reporta de la siguiente manera:

$$m_r = (0,1310 \pm 0,0002)g$$

3 Cálculo del método estadístico mínima diferencia significativa (MDS) y (SNK)

$$\binom{n}{K} = \frac{8!}{(n - k)! * K!} \quad (9)$$

$$MDS_\alpha = t_\alpha * s_\alpha = t_\alpha * \sqrt{\frac{2 * CME}{n}} \quad (10)$$



APÉNDICE B

TABLAS Y FIGURAS BIBLIOGRÁFICAS

En esta sección se sustenta las tablas y figuras bibliográficas que sirvieron de apoyo y sustento en la investigación.

TABLA I

FACTOR DE FISCHER TEÓRICO

Fischer

v_1	v_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161.4	191.5	215.7	234.6	250.2	264.0	276.8	288.9	299.5	309.8	319.0	327.9	335.9	343.0	349.1	354.9	360.5	365.8	370.9	375.8
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50	19.50	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.56	8.55	8.55
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.02	1.97	1.97
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.98	1.93	1.93
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.89
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.75	1.75
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.67	1.62	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.32
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.60	1.55	1.50	1.45	1.39	1.32	1.25	1.25



TABLA II

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN DE MARCO POIANA

Poiana et al.

Table II. Composition of the volatile fraction of alcoholic extract of lemons collected in Amalfi area

	February	April	May	July	September	October	November	Sig.
heptanal	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
α-thujene	0.5c	0.6c	0.6c	0.5c	0.8b	t	t	**
α-pinene	2.8b	2.3b	2.7b	2.4b	4.3a	1.0a	0.9ab	**
camphene	0.1b	0.1b	0.1b	0.1b	0.1a	4.3a	4.0a	**
sabinene	3.5b	3.5b	3.3b	3.2b	5.1a	0.2a	0.1a	**
β-pinene	19.4	18.7	19.4	18.4	18.9	4.9a	4.7a	**
myrcene	2.0cd	2.2bc	1.7de	1.5e	2.6b	17.8	17.3	**
octanal	0.1b	0.1b	0.1b	0.2a	0.1b	3.0a	3.0a	**
α-phellandrene	0.1a	t ab	t ab	t bc	t c	0.2ab	0.2a	*
α-terpinene	0.2c	0.3a	0.3ab	0.3bc	t d	t d	t c	*
p-cymene	t b	t b	t b	1.4a	0.2b	0.1b	0.1d	*
limonene	49.2	47.6	48.6	51.5	47.2	47.1	47.2	*
(Z)-β-ocimene	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
(E)-β-ocimene	0.2c	0.2bc	0.2bc	0.1d	0.3a	0.3ab	t	n.s.
γ-terpinene	13.3b	13.8b	14.8a	11.8c	12.9b	13.4b	0.3abc	**
trans-sabinene hydrate	t	t	t	t	t	13.0b	13.0b	**
α-terpinolene	t c	t c	t c	t c	0.2b	t	t	n.s.
linalool	0.4a	0.4a	0.4a	0.2b	0.4a	0.3b	0.4a	**
cis-sabinene hydrate	t b	t b	t b	0.1a	t b	0.4a	0.4a	*
nonanal	0.3ab	0.3ab	0.3b	0.4a	t b	0.3ab	t b	*
cis-p-menth-2-en-1-ol	t	t	t	t	0.2c	0.3ab	0.3ab	*
trans-p-menth-2-en-1-ol	0.1	t	t	0.1	0.4	0.2	0.1	n.s.
camphor	t	t	t	t	t	0.1	t	n.s.
citronellal	0.1bc	0.2a	0.1bc	0.2b	t	t	t	n.s.
nonanol	t	t	t	t	0.1d	0.1cd	0.2b	**
borneol	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
terpinen-4-ol	0.1	0.1	0.1	0.1	t	t	t	n.s.
α-terpineol	0.6	0.6	0.5	0.6	0.1	0.1	t	n.s.
decanal	0.1b	0.1b	0.1b	0.1a	0.6	0.7	0.1	n.s.
octyl acetate	t	t	t	0.1a	0.1b	0.7	0.7	n.s.
nerol	0.2b	0.1b	0.1b	t	t	t b	0.1b	**
citronellol	t	t	t	0.3a	0.2ab	0.1b	t	n.s.
neral	1.2ab	1.4a	1.0bc	0.7c	t	0.1b	0.1b	*
carvone	t d	0.1a	0.1ab	t bcd	0.9bc	1.0bc	t	n.s.
geraniol	0.2	t	0.2	0.1	0.1abc	1.5a	1.5a	**
geranyl acetate	1.8abc	2.0a	1.3cd	1.0d	0.1	t cd	t cd	*
perillaldehyde	t	t	t	1.3cd	0.1	0.1	0.1	n.s.
undecanal	0.1	0.1	0.1	0.1	1.4bcd	1.9ab	t	n.s.
citronellyl acetate	t bc	0.1a	0.1ab	0.1ab	t	t	t	n.s.
neryl acetate	0.5ab	0.7a	0.5ab	0.8a	0.1	0.1	0.1	n.s.
geranyl acetate	0.4d	0.9a	0.6bc	0.7ab	t c	t c	t c	**
tetradecane	t	t	t	t	0.3b	0.3b	0.3b	**
dodecanal	t bc	t b	t bc	0.1a	0.3d	0.2d	0.3d	**
cis-α-bergamotene	t	0.1	t	0.1a	t	t	t	n.s.
β-caryophyllene	0.3	0.3	0.3	0.3	t bc	t c	t bc	*
trans-α-bergamotene	0.3bc	0.5a	0.5ab	0.5ab	0.4	0.4	0.3	n.s.
(Z)-β-farnesene	t	t	t	0.3c	0.4abc	0.4	0.3	n.s.
citronellyl propionate	t	t	t	t	t	0.4ab	0.4ab	*
α-humulene	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
(E)-β-farnesene	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
β-santalene	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
geranyl propionate	t	0.1	t	t	t	t	t	n.s.
valencene	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
germacrene B	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
β-bisabolene	0.1b	0.1b	0.1b	0.1	0.1	0.1	0.1b	n.s.
α-bisabolol	0.5	0.7	0.7	0.2a	0.1b	0.1b	0.1b	n.s.
	t	t	t	0.2	0.5	0.6	0.7	n.s.
					t	t	t	n.s.

data followed by different letters for each source of variation and column are significantly different by Duncan's Multiple Range Test; significance at P < 0.05 as *, not significant as n.s.; t = trace; significance at P < 0.01 is reported as **.



TABLA II (CONTINUACIÓN) COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR MARCO POIANA

Alcoholic Extracts Composition from Lemon Fruits

Table I. Composition of the volatile fraction of alcoholic extract of lemons collected in Sorrento area

	January	February	March	April	May	June	July	August	November	Sig.
heptanal	t	t	t	t	t	t	t	0.1	t	-
α-thujone	0.6bc	0.6bc	0.7ab	0.7a	0.6bc	0.5c	0.5c	0.5c	0.6bc	**
α-pinene	2.6b	2.5bc	2.8abc	3.0a	2.5bc	2.5bc	2.4bc	2.1c	2.7ab	**
camphene	0.1bc	0.1bc	0.1ab	0.1a	0.1bc	0.1bc	0.1c	0.1c	0.1ab	**
sabinene	2.9	3.0	3.3	3.6	3.2	3.3	3.0	2.9	3.2	n.s.
β-pinene	16.8	17.0	17.7	17.4	18.1	19.2	17.9	16.6	16.5	n.s.
myrcene	1.5b	1.5bc	1.7a	1.7a	1.4bc	1.4c	1.4bc	1.5bc	1.8a	**
octanal	0.1b	0.1b	0.1b	0.1b	0.1b	0.1b	0.1b	0.2a	0.1b	**
α-phellandrene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
α-terpinene	1f	0.2d	0.3a	0.3a	0.3b	0.2c	0.2d	0.2d	0.1e	**
p-cymene	0.1a	0.1c	0.1c	0.1c	0.1c	0.1bc	0.1b	0.1a	0.1bc	**
limonene	56.9ab	55.4ab	52.7bc	49.0c	52.8bc	53.9ab	57.2a	56.9ab	55.9ab	**
(Z)-β-ocimene	t	t	t	0.1	0.1	t	t	t	t	n.s.
(E)-β-ocimene	0.2abc	0.2cd	0.2ab	0.2a	0.2abc	0.2bcd	0.1d	0.2cd	0.2abc	**
γ-terpinene	13.7abc	13.6bc	14.8a	14.4ab	14.4ab	13.6bc	11.2d	11.4d	13.3c	**
trans-sabinene hydrate	0.1bc	0.1abc	0.1abc	0.1abc	0.1c	0.1c	0.2ab	0.2a	0.1abc	*
terpinolene	0.2g	0.5de	0.6ab	0.6a	0.5bc	0.5cd	0.4ef	0.4de	0.4f	**
linalool	0.2bd	0.2bc	0.2ab	0.2a	0.2cd	0.1d	0.2bc	0.2ab	0.2ab	**
cis-sabinene hydrate	1c	1c	1c	0.1a	0.1ab	0.1b	0.1ab	0.1ab	1c	**
nonanal	0.1c	0.2c	0.2c	0.2bc	0.2bc	0.2bc	0.2b	0.3a	0.2c	**
cis-p-menth-2-en-1-ol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
trans-p-menth-2-en-1-ol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
camphor	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
citronellal	0.1d	0.1bc	0.1bc	0.2a	0.1bcd	0.1cd	0.1cd	0.2ab	0.1cd	**
nonanol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
borneol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
terpinen-4-ol	t	0.1	0.1	0.1	t	t	t	0.1	t	n.s.
α-terpineol	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	n.s.
decanal	1d	1cd	1cd	0.1bc	0.1bcd	0.1bcd	0.1b	0.2a	1d	**
octyl acetate	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
nerol	1c	0.1c	1c	0.1c	0.1c	0.1c	0.2b	0.3a	0.1c	**
citronellol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
neral	0.7cde	0.9bcd	0.9bc	1.2a	0.8bcd	0.6de	0.5e	0.5e	1.0b	**
carvone	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
geraniol	t	0.1	t	0.1	0.1	t	0.1	0.1	0.1	n.s.
geranial	0.9cde	1.1bcd	1.2bc	1.7a	1.0bcde	0.7e	0.8de	0.8de	1.3b	**
perillaldehyde	1c	1c	1c	1c	1c	1c	0.1b	0.1a	1c	*
undecanal	1ef	1def	1f	0.1ab	1cde	1bcd	0.1bc	0.1a	1def	**
citronellyl acetate	1c	0.1bc	1c	0.1a	1bc	1bc	0.1bc	0.1ab	1c	*
neryl acetate	0.2e	0.3de	0.3de	0.6bc	0.5bcd	0.4cde	0.7b	1.2a	0.2e	**
geranyl acetate	0.1e	0.3de	0.3de	0.7a	0.4cf	0.3cde	0.5bc	0.5ab	0.1e	**
tetradecane	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
dodecanal	t	t	t	0.1	t	t	t	t	t	n.s.
cis-α-bergamotene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
β-caryophyllene	0.2bc	0.3bc	0.2bc	0.3a	0.2bc	0.2bc	0.1c	0.2bc	0.2bc	**
trans-α-bergamotene	0.3bc	0.7a	0.3c	0.6ab	0.4abc	0.4bc	0.3bc	0.4abc	0.3c	*
(Z)-β-farnesene	t	t	t	t	t	t	t	t	1r	n.s.
citronellyl propionate	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
α-humulene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
(E)-β-farnesene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
β-santalene	t	t	t	t	t	t	t	0.1	t	n.s.
geranyl propionate	t	t	t	t	t	t	t	t	t	n.s.
valencene	1c	1c	1c	0.1a	1ab	1b	1b	0.1a	1c	**
germacrene B	0.1c	0.1a	0.1bc	0.1ab	0.1ab	0.1bc	0.1bc	0.1abc	0.1abc	*
β-bisabolone	0.5bc	0.6bc	0.4bc	0.9a	0.6b	0.6bc	0.5bc	0.5b	0.4c	**
α-bisabolol	t	0.1	t	0.1	t	t	0.1	t	t	n.s.

data followed by different letters for each source of variation and column are significantly different by Duncan's Multiple Range Test; significance at P < 0.01 is reported as **; significance at P < 0.05 as *; not significant as n.s.; t = trace

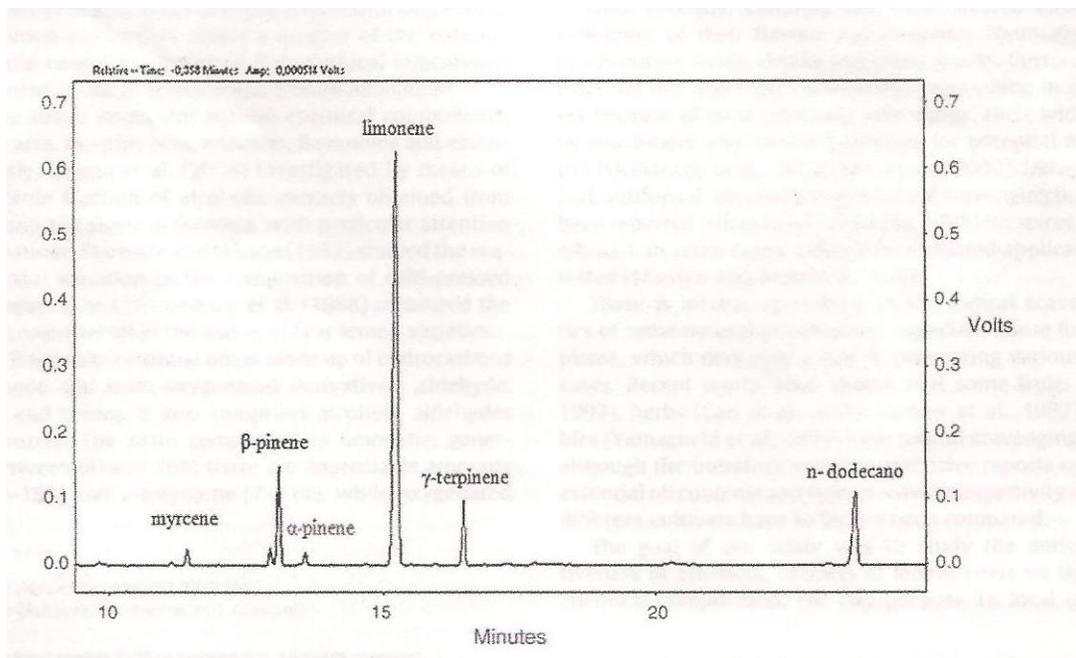


TABLA III
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
POR DI VAIO

Table 1
 Natural and synthetic lemon oil composition

Compounds	Natural essential oil		'Synthetic' essential oil
	Composition % by weight	Main classes % by weight	Composition % by weight
α -Thujene	0.564		-
α -Pinene	1.566		-
Sabinene	1.942		-
β -Pinene	10.052	Terpenes ^a 92.758	-
Myrcene	1.848		-
Limonene	65.016		80.641
γ -Terpinene	10.336		12.117
Terpinolene	0.579		-
Linalool	0.262		0.718
Nonalool	0.150		-
Terpinen-4-ol	0.311	Oxygenates ^a	-
Neral	1.410		-
Geranial	2.058	5.134	4.416
Neryl acetate	0.456		-
Geranyl acetate	0.441		-
β -Caryophyllene	0.478		2.108
α -Bergamottene	0.771	Sesquiterpenes ^a 2.108	-
Bysabolene	0.841		-

TABLA IV
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
DE BANVENUTI





COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR SHAW

248 J. Agric. Food Chem., Vol. 27, No. 2, 1979

Shaw

Table I. Quantities (%) of Components Found in Citrus Essential Oils

	sweet orange	grapefruit	mandarin	lemon	C.P. lime	distilled lime	bitter orange	bergamot	other species and hybrids
acids									
citronellie			0.006 ^a						
decanoic			0.006 ^a						
dodecanoic			0.006 ^a						
heptanoic			0.004 ^a			0.02 ^b			
nonanoic			0.01 ^a						
octanoic			0.04 ^a						
undecanoic			0.003 ^a						
alcohols			0.009 ^a			0.6 ^b			0.2 ^{e,f}
benzyl alcohol			0.01, ^c 0.02, ^a						0.4 ^{e,f}
borneol			0.04 ^d						0.4 ^{e,f}
<i>cis</i> -carveol			0.003, ^d 0.01, ^e						0.4 ^{e,f}
<i>trans</i> -carveol			0.04 ^g	0.5 ^h			0.2, ^f 0.9, ⁱ		0.4 ^{e,f}
citronellol			0.01, ^c 0.03 ^a			0.06 ^b	1.1 ^f		0.4 ^{e,f}
citronellol		0.04 ^{u,w}	0.04 ^a			1.2 ^b			0.3 ^{f,i}
decanol			0.01, ^c 0.04 ^k						0.05 ^{f,i}
elemol			0.02 ^a				0.3 ^f		0.24, ^{u,v}
fenchol			0.01, ^c 0.05 ^d				0.4 ^f		0.4, ^{u,v}
geraniol			0.03, ^c 0.07, ^d	0.08, ^f 0.1, ^g	0.09, ^u 0.2 ⁿ	0.1 ^b	0.5, ^f 0.6, ^f	16, ^f 41 ^f	1.6, ^{e,f}
heptanol		0.3, ^{u,w} 0.4 ^k	1.0, ^g 1.5, ⁿ	0.2, ^f 0.3 ^m			1.0 ^o		1.38, ^{u,w}
isopulegol			1.6, ^g 2.1, ⁿ						1.8, ^g
linalool	0.3, ^l 0.5, ^e		4.2, ^k 6.1 ^r						0.2 ^g
1,8- <i>p</i> -menthadien-4-ol	0.6, ^m 1.0, ⁿ								0.2 ^g
<i>cis</i> -2,8- <i>p</i> -menthadien-1-ol	1.1, ^r 5.3 ^o								0.2 ^g
<i>trans</i> -2,8- <i>p</i> -menthadien-1-ol									1.1, ^{f,i}
nerol	0.1 ⁿ		0.05 ^a		0.1 ⁿ	0.01 ^b	0.1, ^f 0.3 ^f		1.1, ^{f,i}
1-nonanol			0.19 ^a			0.01 ^b			
octanol		0.8 ^k	0.2 ^a						
sabinene hydrate			0.06, ^g 0.1, ^a	0.01, ^x 0.4 ^f		0.7 ^b			
terpinen-1-ol	0.06, ^k 0.2 ^o		0.37 ^a			1.6 ^b	0.3, ^r 0.4 ^r		
terpinen-4-ol	0.1, ⁿ 0.2, ^k	0.2 ^k	0.03, ^c 0.05, ^d	0.2, ^f 0.5 ^m	0.3, ⁿ 1.05 ^u	5.9 ^b	0.2, ^f 0.3 ^f	0.2, ^f 0.3, ⁱ	0.05, ^{u,v}
α -terpineol	0.3, ^m 0.5 ^o		0.06, ^p 0.2, ⁿ				4.0 ^o		0.8, ^{f,i}
			0.9, ^k 1.1 ^a						0.6, ^{f,i}



COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR SHAW

248 J. Agric. Food Chem., Vol. 27, No. 2, 1979

Shaw

Table I. Quantities (%) of Components Found in Citrus Essential Oils

	sweet orange	grapefruit	mandarin	lemon	C.P. lime	distilled lime	bitter orange	bergamot	other species and hybrids
acids									
citronellic			0.006 ^a						
decanoic			0.08 ^a						
dodecanoic			0.006 ^a						
heptanoic			0.004 ^a						
nonanoic			0.01 ^a			0.02 ^b			
octanoic			0.04 ^a						
undecanoic			0.003 ^a						
alcohols			0.009 ^a			0.6 ^b			0.2 ^{e,f}
benzyl alcohol			0.01 ^c 0.02 ^a						
borneol			0.04 ^d						
cis-carveol			0.003 ^d 0.01 ^c						0.4 ^{e,f}
trans-carveol			0.04 ^e	0.5 ^{g,h}			0.2 ^f 0.9 ^f		0.4 ^{f,i,j}
citronellol		0.04 ^{w,w}				0.06 ^b	1.1 ⁱ		
decanol			0.01 ^e 0.04 ^k			1.2 ^b			0.3 ^{f,i}
elemol			0.02 ^a						
fenchol			0.01 ^e 0.05 ^d				0.3 ^f		0.05 ^{f,i}
geraniol			0.03 ^c 0.07 ^d				0.4 ^f		0.24 ^{u,v}
heptanol			0.2 ^e 0.9 ^p	0.08 ^f 0.1 ^s	0.09 ^u 0.2 ⁿ	0.1 ^b	0.5 ^f 0.6 ^f	16 ^f 41 ^f	0.4 ^{l,j}
isopulegol			1.0 ^g 1.5 ⁿ	0.2 ^f 0.3 ^m			1.0 ^o		1.0 ^{e,f}
linalool	0.3 ⁱ 0.5 ^e 0.6 ^m 1.0 ⁿ 1.1 ^k 5.3 ^o	0.3 ^{w,w} 0.4 ^k	1.6 ^v 2.1 ^r 4.2 ^k 6.1 ^r						1.38 ^{u,w} 1.9 ⁿ
1,8-p-menthadien-4-ol									0.2 ^e
cis-2,8-p-menthadien-1-ol									0.2 ^e
trans-2,8-p-menthadien-1-ol									0.3 ^e
nerol	0.1 ⁿ		0.05 ^a				0.1 ^f 0.3 ^f		1.1 ^{f,i}
1-nonanol			0.1 ⁿ		0.1 ⁿ	0.01 ^b			
octanol		0.8 ^k	0.2 ^a			0.01 ^b			
sabinene hydrate			0.06 ^a 0.1 ^a						
terpinen-1-ol	0.06 ^k 0.2 ^o	0.08 ^k	0.3 ^r	0.01 ^x 0.4 ^t		0.7 ^b	0.3 ^r 0.4 ^r		
terpinen-4-ol	0.1 ⁿ 0.2 ^h 0.3 ^m 0.5 ^o	0.2 ^k	0.03 ^c 0.05 ^d 0.06 ^p 0.2 ⁿ 0.9 ^k 1.1 ^a	0.2 ^f 0.5 ^m	0.3 ^v 1.05 ^u	5.9 ^b	0.2 ^f 0.3 ^f	0.2 ^f 0.3 ^f 4.0 ^f	0.05 ^{u,v} 0.06 ^{l,j} 0.3 ⁿ 0.6 ^{f,i}
α-terpineol									



TABLA V (CONTINUACIÓN) COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR SHAW

Quantitative Analysis of Essential Oils

J. Agric. Food Chem., Vol. 27, No. 2, 1979

Compound	0.4 ^f	0.04 ^p , 0.08 ^a , 0.2 ^h , 0.03 ^a	0.1 ^f	0.7 ^b	1.1 ^{u,w}
<i>β</i> -terpineol					2.9 ^{u,x} , 6 ^a
tetrahydrogeraniol					
thymol					
<i>α,α</i> -trimethylbenzyl alcohol					
aldehydes					
citral	0.05 ^{aa,bb} , 0.1 ^{aa,bb,cc} , 0.06 ^{aa} , 0.2 ^{aa,cc} , 0.1 ^{u,m}	0.05 ^{aa} , 0.06 ^{aa}	2.0-2.6 ^{aa} , 2.1-13.2 ^x , 2.3 ^{dd} , 0.03 ^f , 0.1 ^x , 0.2 ^m	3.1-3.7 ^{aa,ee} , 5.3 ^{aa,y} , 1.4 ⁿ	0.21 ^{u,w} , 0.27 ^{u,v} , 0.4 ^{f,i,j} , 0.14 ^{ff} , 0.2 ^{n,u,v} , 0.3 ^{f,gg} , 0.6 ^{da,gg}
citronellal					
decanal	0.1 ⁿ , 0.2 ^{i,ff} , 0.3 ^{ff} , 0.6 ^{ww} , 0.4 ^{g,c} , 0.2 ^{d,p} , 0.4 ^{i,ff} , 0.5 ^{ad,ff} , 0.6 ^{cc} , 0.7 ^m , 0.05 ⁱ , 0.08 ^{cc} , 0.09 ^{cc} , 0.2 ^{ff}	0.04 ^{g,c} , 0.2 ^{d,p} , 0.3 ^{ff} , 0.5 ^q , 0.6 ^r , 0.9 ^r	0.06 ^g , 0.1 ^{dd} , 0.2 ^m	0.1 ⁿ	0.09 ^b
dodecanal	0.06 ^{cc} , 0.07 ^{ff} , 0.09 ^{ff} , 0.12 ^{ff} , 0.14 ^{ff} , 0.15 ^{icc} , 0.2 ^m , 0.03 ^{ad,dd} , 0.05 ^{dd} , 0.006 ^{ff} , 0.02 ^{ff}	0.006 ^a , 0.02 ^d , 0.15 ^{ff}	0.1 ^{dd}	0.006 ^b	0.07 ^{ff} , 0.1 ^{m,dd,ff} , 0.2 ^{ff,gg}
furfural					
geraniol	0.06 ^{cc} , 0.07 ^{ff} , 0.09 ^{ff} , 0.12 ^{ff} , 0.14 ^{ff} , 0.15 ^{icc} , 0.2 ^m , 0.03 ^{ad,dd} , 0.05 ^{dd} , 0.006 ^{ff} , 0.02 ^{ff}	0.06 ^{ff} , 0.07 ^p , 0.2 ^d , 0.3 ^h	0.6 ^s , 0.9 ^s , 1.6 ^t , 2.3 ^m	5.1 ^{y,hh} , 6.8 ^u	0.08 ^{ff,gg} , 0.2 ^{u,v}
heptanal					
hexanal					
neral	0.01 ^{cc,ff} , 0.02 ^{ff} , 0.06 ^{ff} , 0.07 ^{ff} , 0.08 ^{ff} , 0.07 ^{dd} , 0.07 ^{dd} , 0.09 ^{icc}	0.06 ^{ff}	0.4 ^s , 0.5 ^{g,h} , 0.8 ^t , 1.3 ^m	0.4 ⁿ , 3.2 ^{y,hh} , 4.6 ^u	0.05 ^{ff} , 0.07 ^{ff,gg} , 0.2 ^{u,v}
nonanal	0.06 ^{cc,dd} , 0.07 ^{dd} , 0.09 ^{icc}	0.03 ^g	0.09 ^g , 0.2 ^{dd} , 0.3 ⁿⁿ	0.2 ⁿ	0.04 ^{dd,gg} , 0.1 ^{ff} , 0.5 ^h
octanal	0.2 ^{m,n,ff} , 0.3 ^{cc,dd,ff} , 0.5 ^{ff} , 0.7 ^{cc,dd} , 0.8 ^h , 2.8 ^o	0.04 ^a , 0.3 ^{nn,ff}	0.1 ^{dd} , 0.15 ^f	0.03 ^b , 1.4 ⁱ , 1.9 ⁱ , 2.2 ⁱ	0.15 ^{ff} , 0.3 ^{ff} , 0.4 ^h , 0.6 ^{ff,gg} , 0.9 ^{dd,gg} , 1.3 ^h



TABLA V (CONTINUACIÓN) COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR SHAW

250 J. Agric. Food Chem., Vol. 27, No. 2, 1979

Shaw

Table I. (Continued)

	sweet orange	grapefruit	mandarin	lemon	C.P. lime	distilled lime	bitter orange	bergamot	other species and hybrids
perillaldehyde	0.02 ^l	0.2 ^{uw}	0.003 ^c 0.02 ^d 0.05 ^e 0.1 ^p						
α-sinensal	0.03 ^l 0.06 ^{m,ii}								
β-sinensal	0.09 ^l								
tetradecanal	0.05 ^l 0.08 ^{ff}	0.1 ^{ff}	0.05 ^{ff}						0.06 ^{ff} 0.1 ^{ff,gg} 0.2 ^{hd,gg}
undecanal	0.01 ^{cc} 0.02 ^{cc,dd} 0.03 ^{dd} 0.2 ^m								
esters									
citronellyl acetate			0.04 ^c 0.1 ^d	0.04 ^m 0.2 ^g			0.2 ⁱ 0.6 ^f		0.08 ^{l,j} 0.4 ^{f,i} 0.08 ^{l,j} 0.4 ^{f,i}
citronellyl formate							0.1 ⁱ 0.3 ⁱ 1.1 ^f		
decyl acetate		0.15 ^{uw}	0.002 ^a 0.003 ^e	0.05 ^g	0.1 ⁿ				
geranyl acetate			0.003 ^a 0.04 ^c 0.1 ^d	0.1 ^s 0.4 ^{t,m} 1 ^x	0.55 ^u 3.1 ^{y,hh,ij}	0.3 ^b	0.6 ^f		0.05 ^{u,v} 0.1 ⁿ
geranyl formate									
linalyl acetate							0.3 ⁱ 0.6 ^f 0.3 ⁱ 0.9 ⁱ 1 ⁱ	11.4 ^r 38 ^r 44 ^r	0.2 ^{f,i,j} 0.1 ^{i,j}
1,8-p-menthadiene-9-yl acetate									
1-p-menthen-9-yl acetate									
neryl acetate	0.1 ^m	0.2 ^w	0.003 ^c 0.001 ^c 0.06 ^c 0.1 ^d	0.1 ^s 0.3 ^t 0.4 ^m	2.5 ^u 3.1 ^{y,hh,ij} 0.2 ⁿ	0.01 ^b			0.4 ^{u,v}
neryl formate	0.1 ⁿ								
octyl acetate	0.1 ^m	0.1 ^w	0.02 ^c 0.04 ^d 0.1 ^d	0.04 ^g					
perillyl acetate			0.002 ^c 0.05 ^d						
terpinyl acetate									
hydrocarbons									
α-bergamotene	0.06 ^m			0.4 ^m					0.27 ^{u,v,y} 0.9 ^{u,w,y} 0.3 ^{u,v} 0.4 ^{u,w}
β-bisabolene				0.14 ^g 0.8 ^m 1.4 ^x	2.5 ^{u,y} 4.0 ^z	0.5 ^b 0.9 ^b			
α-cadinene			0.02 ^c						0.1 ^{e,f}
γ-cadinene									0.1 ^{e,f}



TABLA V (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR SHAW

Quantitative Analysis of Essential Oils

J. Agric. Food Chem., Vol. 27, No. 2, 1979 251

Table I. (Continued)

Δ-cadinene	0.1 ^m	0.1 ^{uw} 0.2 ^{hk}	0.2 ^d 0.01 ^{kk} 0.02 ^{α,kk} 0.4 ^d	0.2 ^m 0.5 ^{kk}	0.8 ^b	0.4 ⁱ 0.9 ^f	0.3 ^{f,i} 0.9 ^{l,j} 1.2 ^{kk} 0.1 ^{kk}
	camphene		0.004 ^{kk} 0.06 ^{kk} 0.02 ^d 0.04 ^c 0.09 ^d 0.008 ^c 0.06 ^c 0.2 ^d	0.3 ^m	2.5 ^{u,y}	0.3 ^b	0.02 ^f 0.1 ^r 0.27 ^{u,v,y} 0.9 ^{u,w,y}
Δ ³ -carene		0.3 ^{sw}					
caryophyllene		0.06 ^{uw}					
α-copaene		0.01 ^{uw}					
β-copaene	0.1 ^m	0.4 ^{kk}	0.2 ⁿ 0.4 ^{kk} 0.5 ^{α,kk} 1.6 ^c 1.9 ^{kk} 2.8 ⁱ 8.2 ^d	0.6 ^s 0.9 ^{mm} 1.1 ^{kk}	0.5 ^{mm} 1.3 ⁿ 1.9 ^{kk}	11.6 ^b	0.3 ⁿ 0.4 ^{kk} 2.6 ^e
β-cubebene	0.2 ⁿ						
p-cymene							
α-p-dimethylstyrene	0.05 ⁱ	0.06 ^{uw}	0.07 ^p 0.3 ^c 0.8 ^d 0.2 ^p 0.06 ^c 0.1 ^p			0.5 ^b	0.62 ^{u,w} 0.1 ^e
β-elemene	0.02 ⁱ 0.07 ^m						
γ-elemene							
Δ-elemene							
farnesene							
α + β-humulene	83 ^p 88 ^{cc,mm} 89 ^{cc,mm} 93 ^m 95 ^{h,i} 97 ^h	86 ^{mm,uw} 93 ^k 95 ^{kk}	0.05 ^c 69 ^h 68 ^a 79 ^{cc} 83 ^g 84 ^r 87 ^r 86 ^b 89 ^{c,kk} 94 ^{d,n,kk} 0.01 ^c	0.2 ^m 54 ⁻⁶⁸ x 58 ^{mm} 63 ^m 68 ^{mm} 72 ^{mm} 74 ^{mm} 76 ^{kk} 80 ^s	47 ^{mm} 48 ^{u,y,kk} 64 ^{h,kk}	60 ^b	0.27 ^{u,w} 67 ^{kk} 82 ^{u,w} 83 ^{l,j} 84 ^{l,j} 85 ^{cc,f} 92 ^{u,v} 93 ^h 0.1 ^e
limonene	0.9 ⁿ 1.1 ^{cc} 1.2 ^{mm} 1.3 ^{mm} 1.4 ^k 2.0 ⁱ 2.1 ^m	1.4 ^{mm} 1.9 ^k 2.1 ^{uw}	1.2 ^{a,k,l} 2.0 ^f 2.1 ⁿ 2.3 ^p 2.6 ^r 2.8 ^r 2.9 ^r 7.6 ^q	0.9 ^{mm} 1.1 ^{mm} 1.7 ^{mm} 2.1 ^m 12.7 ^{a,mm}	0.7 ^{mm} 10.3 ⁿ	0.8 ^b	1.2 ⁿ 1.8 ^{f,i} 2.1 ^{u,w} 2.6 ^{l,j} 3.1 ^{e,f}
longifolene							
α-murcolene							
myrcene							



TABLE VI
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. Quantitative composition (percentage) of lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) peel oil reported in the literature (1-39)

Monoterpene hydrocarbons				
camphene	0.493 (1)	0.05 (4,26,38)	0.06 (5,12,22,27,34)	
	0.07-0.08 (6)	0.03 (7)	0.05-0.07 (9)	
	0.058 (13)	0.04-0.07 (14)	0.05-0.06 (16)	
	0-0.1 (17)	0-0.64 ^a (18)	0.08 (19)	
	0.2-0.5 (20)	0.059 (21)	0-0.07 (24)	
	0.1 (25)	0.05-0.10 (29)	0-0.05 (31)	
	0.044-0.094 (32)	0.07 (36)	0.0423-0.0428 (37)	
	0.03-0.04 (39)			
	δ-3-carene	0.004 (4)	0.02 (5)	0.004-0.006 (6)
		t (7,26,29,34,36)	0-(9,17)	0.003 (12)
0.005 (13,21)		0.01 (14,22)	0-2.52 ^a (18)	
0-0.04 (31)		0.0045-0.0062 (37)	t-0.01 (39)	
p-cymene	1.08 (1)	0.04 (4)	0.13 (5)	
	0.03 (6,19)	0.02-0.03 (7)	3.20 (8)	
	0.18-0.58 (14)	0.50-1.28 (15)	0.18-0.20 (16)	
	0.1-7.8 (17)	0-1.57 ^a (18)	0.6-1.1 (20)	
	67.15 ^a (22)	0.06-0.081 (24)	0.4 (25)	
	66.30 ^a (26)	0.97 (27)	0.170-0.420 ^a (29)	
	0.7(30)	1.02-2.93 (31)	0.43-2.00 (33)	
	65.227 ^a (34)	0.16 (36)	t (37)	
	0.19 (38)	0.02-0.08 (39)		
	0-1 (17)			
p-cymenene	75.6 (1)	72.0 (2)	68.72 (4)	
	61.77 (5)	58.47-60.36 (6)	75.74-76.48(7)	
	61.89 (8)	69.05-70.17 ^a (9)	64.586 (12)	
	66.046 (13)	65.06-67.65 (14)	77.10-79.36 (15)	
	56.60-59.34 (16)	48.6-70.5 (17)	220.3-315.5 ^a (18)	
	64.62 (19)	54.0-80.0 (20)	65.866 (21)	
	67.15 ^a (22)	70.08-76.50 (24)	70.4(25)	
	66.30 ^a (26)	68.8 (27,30)	60.20-71.06 (29)	
	56.99-80.71 (31)	64.073-70.774 (32)	65.227 ^a (34)	
	60.18 (36)	61.5571-63.0510 (37)	64.34 (38)	
myrcene	65.96-75.99 (39)			
	8.02 (1)	1.50 (4)	1.45 (5)	
	1.22-1.33 (6)	1.74-1.77 (7)	1.24 (8)	
	1.51-1.78 (9)	1.535 (12)	1.480 (13)	
	1.34-1.55 (14)	1.55-2.00 (15)	1.30-1.38 (16)	
	1.1-1.5 (17)	10.5-18.9 ^a (18)	1.43 (19)	
	0.9-12.7 (20)	1.478 (21)	1.58 (22)	
	1.14-1.58 (24)	1.91 (25)	1.47 (26,27)	
	1.39-1.52 (29)	1.3 (30)	1.34-1.40 (31)	
	1.509-1.597 (32)	1.27-1.53 (33)	1.466 (34)	
1.52 (36)	1.3289-1.4788 (37)	1.10 (38)		
1.45-1.75 (39)				
ocimene	1.48 ^a (8)	-	0.04 ^a (27)	

The botanical name for grapefruit tree is *Citrus paradisi* Macf. Some important varieties are Duncan and Marsh seedless, which give colorless oils. Grapefruit oil is a valuable ingredient in foods and beverages, as well as perfumery and cosmetic products. Several reviews comparing the volatile chemical composition of grapefruit and other citrus oils can be found in literature (14,20,23). As mentioned above, these peel oils have been the subjects of numerous investigations about cold-pressed grapefruit peel oils over the last 40 years (40-66). Quantitative compositions of grapefruit peel oil components were reported in the literature are shown in Table II as a comparison base. These studies were designed to infer what was responsible for its characteristic aroma and flavor.

Shaw (20) found that the reported values for limonene ranging from 86-95%, for α-pinene 0.2-1.6% and for octanal 0.3-0.6%. Sawamura et al. (55) compared the nootkatone content of a variety of *Citrus* species, their cultivars and some hybrids. They found that the grapefruit oil, which was obtained from Duncan cultivars, contained 0.10-0.19% nootkatone as compared to a lower level for another unnamed cultivars. It was interesting note that the highest nootkatone levels (0.46-1.00%) were found in pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) types. Feger et al. (63) examined three commercial samples (Israel, Cuba and Florida origins) grapefruit oil and compared the oil to oil of a grapefruit hybrid.



TABLA VI (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR KIRBASLAR AND BOZ

Turkish Lemon and Grapefruit Peel Oils

Table I. continued

(E)- β -ocimena	0.12 (5,21)	0.09-0.17 (9)	0.056 (12)
	0.129 (13)	0.1-0.60 (14)	0.18-0.32 (15)
	0.08-0.10 (16)	0.1 (17,22,30)	1.80-4.0 ^a (18)
	nq (19)	0.11-0.19 (24,31)	0.3 (25)
	0.13 (26,36)	0.07-0.15 (29)	0.065-0.152 (32)
(Z)- β -ocimene	0.10-0.16 (33)	0.149 (34)	0.1231-0.1611 (37)
	0.07-0.29 (39)		
	0.07 (5,36)	1-0.10 (9)	0.033 (12)
	0.068 (13)	1 (15,17,30)	0-1.55 ^a (18)
	0.04 (19)	0.066 (21)	0.05 (22)
α -phellandrene	0.2 (25)	0.08 (26)	0-0.04 (29)
	0.039-0.090 (32)	0.12-0.14 (33)	0.094 (34)
	0.0455-0.0759 (37)	0.06 (38)	0.03-0.20 (39)
	0.221 (1)	0.04 (4,5,6,7,16)	0.16-0.21 ^a (9)
	0.135 ^a (12)	0.111 ^a (13)	0.01-0.10 (14,16)
β -phellandrene	0.06-0.08 (15)	0-1 (17)	0.2 (20)
	0.118 ^a (21)	0.07 (22,26)	0.01 (24)
	0.1 (25)	0.03 (27)	0.04-0.06 (29)
	0-0.03 (31)	0.092-0.142 ^a (32)	0-0.14 (33)
	0.039 (34)	0.08 (36)	0.0395-0.0422 (37)
α -pinene	0.26 (38)	0.04-0.12 (39)	
	0.776 (1)	0.32 ^a (5)	0.39-0.55 (16)
	0.3-0.6 (17)	nq (19)	0.28 (27)
	0.17-0.42 ^a (29)	65.227 ^a (34)	1 (38)
	1.30 (1)	1.72 (4)	1.77 (5)
β -pinene	2.11-2.15 (6)	1.41-1.50 (7)	1.47 (8)
	1.65-1.98 (9)	2.041 (12)	1.878 (13)
	1.23-1.94 (14)	0.80-1.53 (15)	2.04-2.29 (16)
	1.3-2.3 (17)	8.55-16.6 ^a (18)	2.55 (19)
	0.4-5.0 (20)	1.947 (21)	1.92 (22)
sabinene	0.44-1.26 (24)	1.8 (25)	1.70 (26)
	2.22 (27)	1.27-2.27 (29)	1.8 (30)
	1.20-1.30 (31)	1.164-2.057 (32)	1.16-1.61 (33)
	1.921 (34)	2.23 (36)	1.1299-1.3266 (37)
	2.11 (38)	1.12-1.51 (39)	
α -terpinene	0.744 (1)	12.4 (2)	10.13 (4)
	11.89 (5)	5.62-17-29 (6)	5.38-6.44 (7)
	13.75 (8)	11.13-12.24 ^a (9)	13.825 ^a (12)
	14.354 ^a (13)	9.77-12.41 (14)	0.65-0.99 (15)
	14.46-17.10 (16)	11.2-15.8 (17)	57.8-138.0 ^a (18)
α -terpinene	13.96 (19)	2.2-13.9 (20)	14.313 ^a (21)
	13.88 ^a (22)	4.93-8.64 (24)	13.67 ^a (26)
	11.54 (27)	8.34-9.42 (29)	12.8 (30)
	8.78-9.74 (31)	10.172-14.400 ^a (32)	8.32-14.25 (33)
	13.128 (34)	18.15 ^a (36)	9.2740-10.8031 (37)
α -terpinene	12.64 (38)	6.66-10.81 ^a (39)	4.2 (25)
	1.65 (4)	1.88 (5)	2.48-2.68 (6)
	1.09-1.17 (7)	2.32 (8)	11.13-12.24 ^a (9)
	13.825 ^a (12)	14.354 ^a (13)	1.21-1.93 (14)
	1.15-4.87 (15)	2.18-2.62 (16)	1.7-2.2 (17)
α -terpinene	2.32 (19)	0.5-1.5 (20)	14.313 ^a (21)
	13.88 ^a (22)	0.85-1.51 (24)	1 (25)
	13.67 ^a (26)	0.93-1.52 (29)	1.2 (30)
	1.23-1.30 (31)	10.172-14.400 ^a (32)	1.46-1.76 (33)
	18.15 ^a (36)	1.5495-1.7133 (37)	1.08 (38)
α -terpinene	6.66-10.8 ^a (39)		
	0.672 (1)	0.32 (4)	0.32 ^a (5)
	0.28-0.32 (6)	0.26-0.27 (7)	0.19-0.28 (9)
	0.249 (12)	0.204 (13)	0.19-0.20 (14)
	0.20-0.21 (16)	0-0.2 (17)	0.03 (19)
α -terpinene	0.7 (20)	0.181 (21)	0.18 (22,26)
	0.06-0.13 (24)	0.3 (25)	0.12-0.30 (29)
	0.1 (30)	0-1 (31)	0.164-0.247 (32)
	0.13-0.19 (33)	0.204 (34)	0.16 (36)
	0.1424-0.2418 (37)	0.01 (36)	0.15-0.23 (39)



TABLA VI (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. continued

γ -terpinene	11.8 (1)	8.3 (2)	8.55 (4)
	10.67 (5)	9.39-9.78 (6)	7.80-8.03 (7)
	5.39 (8)	8.36-9.18 (9)	10.924 (12)
	9.334 (13)	9.67-10.55 (14)	7.32-8.85 (15)
	9.08-10.24 (16)	1.3-11.1 (17)	66.8-90.2 ^a (18)
	10.25 (19)	2.9-14.0 (20)	9.393 (21)
	8.88 (22)	6.00-9.51 (24)	11.8 (25)
	9.47 (26)	7.98 (27)	8.06-9.45 (29)
	8.7 (30)	4.79-7.97 (31)	7.329-10.904 (32)
	8.48-10.54 (33)	9.758 (34)	10.10 (36)
	9.78 (38)	11.3667-12.3426 (37)	7.16-11.11 (39)
terpinolene	0.39 (4)	0.53 (5)	0.36-0.39 (6)
	0.35-0.37 (7)	0.50 (8)	0.25-0.41 (9)
	0.482 (12)	0.392 (13)	0.41-0.46 (14)
	0.42-0.55 (15)	0.33-0.40 (16)	t-0.5 (17)
	3.35-5.20 ^a (18)	0.41 (19)	0.6-0.9(20)
	0.375 (21)	0.36 (22,27,36)	0.38-0.59 (24)
	0.8 (25)	0.39 (26)	0.39-0.52 (29)
	0.2 (30)	0.30-0.39 (31)	0.321-0.474 (32)
	0.35-0.45 (33)	0.392 (34)	0.5264-0.5930 (37)
	0.47 (38)	0.31-0.48 (39)	
	0.38 (4)	0.41 (5)	0.44-0.45 (6)
α -thujene	0.34-0.36 (7)	0.41-0.66 (9)	0.495 (12)
	0.418 (13)	0.27-0.43 (14)	0.31-0.47 (15)
	0.2-0.4 (17)	2.11-3.60 ^a (18)	0.436 (21)
	0.40 (22)	0.07-0.28 (24)	0.3 (25,30)
	0.37 (26)	0.27-0.43 (29)	0.20-0.28 (31)
	0.333-0.494 (32)	0.25-0.31 (33)	0.427 (34)
	0.47 (36)	0.2589-0.3198 (37)	0.26-0.39 (39)
	0.01 (21,22,26,36,47)	0.008 (34)	0.0033-0.0036 (37)
	0-0.03 (39)		
	Sesquiterpene hydrocarbons		
aromadendrene	0.01 (19)		
allo-aromadendrene	t (19)	0-0.05 (31)	
bergamotene	0.20 ^a (8)	0.36-0.40 ^a (9)	0-0.70 ^a (18)
α -bergamotene	0.32 ^a (5)	0.18-0.22 (15)	0.39-0.46 (16)
	0.21 (19)	0.37 ^a (38)	
<i>cis</i> - α -bergamotene	0.03-0.04 (14)	t (34)	
<i>trans</i> - α -bergamotene	0.37 (4)	0.35-0.40 (6)	0.34-0.42 (7)
	0.362 (12)	0.326 (13)	0.46-0.53 (14)
	0.3-1.3 (17)	0.4 (20)	0.336 (21)
	0.34 (22,34)	0.11-1.76 (24)	0.3 (25,30)
	0.39 (26,36)	0.22 ^a (27)	0.17-0.28 (29)
	0.17-0.82 (31)	0.296-0.400 (32)	0.37-0.54 (33)
bicyclgermacrene	nq (16)	0.05 (26)	0-0.12 (31)
	0.041 (34)	0.06 (36)	0.1369-0.1759 (37)
	1.84 (38)	0.02-0.11 (39)	
α -bisabolene	0-0.2 (17)	0.04 (22,26,34,36)	0.0599-0.0748 (37)
	0.03-0.07 (39)		
β -bisabolene	0.56 (4,27)	0.51 (5,22)	0.53-0.62 (6,9)
	0.50-0.62 (7)	0.60 (8)	0.546 (12)
	0.509 (13)	0.68-1.0 (14)	0.02-0.09 (15)
	0.4-2.0 (17)	0.31 (19)	0.14-1.4 (20)
	0.495 (21)	0.20-2.50 (24)	0.5 (25,30)
	0.57 (26)	0-0.29 (31)	0.456-0.603 (32)
	0.62-0.81 (33)	0.499 (34)	0.58 (36)
	0.7232-0.7893 (37)	0.46-0.88(39)	
γ -bisabolene	t (34)		
γ -cadinene	0-0.42 (31)		
δ -cadinene	nq (19)	0-0.42 (31)	0.1 (25)
cadina-1,4-diene	1.34 (31)		



TABLA VI (CONTINUACIÓN)
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
POR KIRBASLAR AND BOZ

Table I. continued

β-caryophyllene	0.26 (5)	0.10 (8)	0.24-0.31 (9)
	0.252 (13)	0.03-0.07 (15)	0.13-0.23 (16)
	0.312 (12)	2.91-5.98 ^a (18)	0.233 (21)
	0.12-0.93 (24)	0.3 (25)	0.22 (26)
	0.22 ^a (27)	0.13-0.19 (29)	1.2 (30)
	0.23-0.47 (31)	0.227-0.310 (32)	0.18-0.25 (33)
	0.241 (34,36)	0.24 (4)	0.23-0.26 (6)
	0.20-0.28 (14)	0.25 (19)	0.3 (20)
	0-0.7 (17)	0.26 (22)	0.21-0.27 (7)
	0-0.41 (31)	0-0.08 (24)	
α-copaene	t (19)		
α-cubebene	nq (19)		
β-cubebene	nq (19)		
β-elemene	0-0.07 (31)		
δ-elemene	0.01-0.03 (14)		
γ-elemene	nq (16)	t (19,38)	0.01 (22)
	0-0.06 (31)		
farnesene	0.40-1.73 ^a (18)		
(E)-β-farnesene	0.03-0.04 (14)	0.04-0.06 (16)	t-0.2 (17)
	0.04 (21,38)	0.05 ^m (22,26)	t (27,48)
	0.013 (34)	0.03-0.06 (39)	
(E,E)-α-farnesene	0.2 (25)		
(Z)-β-farnesene	0.047 (13)	0.04-0.06 (14)	0.044 ⁿ (21)
	0.038(34)	0.03 (36)	0.0401-0.0424 (37)
germacrene D	0-t (15,17)	0.02 (22)	0-0.16 (31)
	0.01 (36)	0.0104-0.0146 (37)	t-0.02 (39)
α-humulene	0.02 (4,6,7,12,16,22,26,36)	0.03 (5)	0.02-0.08 (9)
	0.016 (13,21,34)	0.03-0.04 (14)	0-t (17)
	1.04-7.9 ^a (18)	nq (19)	0.2 (20)
	0-0.34 (24)	t (25,38)	0.01-0.03 (29)
	0-1.07 (31)	0.014-0.020 (32)	0.0296-0.0423 (37)
	0.02-0.04 (39)		
longifolene	nq (19)		
α-murolene	0.12-0.33 (15)		
δ-murolene	nq (16, 19)	0.01 (38)	
γ-murolene	t (22)	0.02 (26)	0.01 (36,39)
α-santalene	0.0076-0.0124 (37)		
β-santalene	nq-0.01 (16)	t (38)	
	0.049 (12)	0.047 ⁿ (13)	nq (16)
	0.044 ^m (21)	0.05 ^m (22,26)	t (27)
	0.046-0.057 (32)	0.038 ^r (34)	0.01 (36,38)
	0.0180-0.0198 (37)	0.01-0.02 (39)	
β-selinene	0-nq (16)	0.01 (38)	
valencene	t-0.02 (9)	0.002 (12)	0.028 (13,21)
	0.03-0.16 (14)	0-0.05 (17)	0.04 (22,26)
	0-0.24 (31)	0.025 (34)	0.02 (36)
	0-0.0044 (37)	0.01-0.06 (39)	
Alcohols			
α-bisabolol	0.026 (12)	0.024 (13)	0.03 (16,26,34)
	0.01 (19)	0.022 (21)	0.04-0.05 (24)
	0.022-0.030 (32)	0.02 (36,38)	0.0323-0.0365 (37)
	0.02-0.05 (39)		
β-bisabolol	nq (16)	0.01 (19)	0.02 (22)
	0.008 (34)	t (38)	
borneol	nq (19)	0.02 (22,26)	0.01 (24,36)
	t (25,34)	0.0232-0.0379 (37)	0.01-0.03 (39)
α-cadinol	nq (19)		
δ-cadinol	0-nq (16)		
carvacrol	0.01 (19)		
carveol	0.03-0.14 ^a (31)		
campherenol	0.023 (12)	0.02 (13, 22,36)	0.018 (21)
	0.019-0.026 (32)	0-0.02 (34)	0.0279-0.0320 (37)
	0.02-0.04 (39)	0.03 (26)	
trans-carveol	nq (16)	t (19)	



TABLA VI (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. continued

cinnamyl alcohol	t (19)		
citronellol	0.15 (8)	0.03-0.04* (9)	0.028* (12)
	0.029* (13)	0.01 (14,19)	0.02-0.08 (15)
	0-nq (16)	0-t (17)	0.035* (21)
	0.03* (22)	t (25,38)	0.10* (26)
	0.027-0.068* (32)	0.050 (34)	0.0340-0.0686* (37)
	0.01-0.07* (39)		
p-cymen-8-ol	0.01 (19)	0-0.11 (31)	
decanol	0.03-0.04 (15)	0.01 (19)	
dodecanol	0-0.17 (31)		
hexadecanol	0-nq (16)	t (38)	
undecanol	nq (19)		
elemol	t (19)		
β-eudesmol	0.01 (19)	0.04-0.06 (31)	
eugenol	t (19)		
(Z,E)-farnesol	t (19)	0-0.03 (31)	
(Z,Z)-farnesol	0-0.08 (31)		
(E,E)-farnesol	t (19)	0-0.05 (31)	
α-fenchyl alcohol	t (25)		
geraniol	0.04 (4,26)	0.93 (5)	0.03-0.05 (6,9)
	0.02-0.03 (7)	0.10 (8)	0.024 (12)
	0.061 (13,19)	0.01-0.12 (14)	0-0.1 (17)
	0.03 (22,38)	0.02-0.10 (24)	t (27)
	0.18-1.05 (29)	0.26-0.58 (31)	0.018-0.034 (32)
	0.15-0.19 (33)	0.032 (34)	0.02 (36)
	0.0267-0.0341 (37)	0.01-0.05 (39)	
cis-geraniol	0.02-0.03 (16)		
trans-geraniol	0.01-0.02 (16)		
germacrene D-4-ol	0.020 (34)		
globulol	0-0.03 (31)		
1-hexen-3-ol	0.04 (5)		
limonenediol	0.01 [†] (19)		
linalool	0.17 (2)	0.14 (4,26)	0.24 (5)
	0.13-0.21 (6)	0.09-0.20 (7)	0.67 (8)
	0.10-0.13 (9)	0.115 (12)	0.121 (13)
	0.08-0.12 (14)	0.16-0.43 (15)	0.23-0.27(16)
	0.2-0.4 (17)	3.35-13.37* (18)	0.15 (19)
	0.08-0.3 (20)	0.109 (21)	0.12 (22,27)
	0.21-0.63 (24)	0.1 (25,30)	0.18-0.46 (29)
	0.57-1.29 (31)	0.116-0.145 (32)	0.25-0.37 (33)
	0.108 (34)	0.13 (36)	0.2031-0.2766 (37)
	0.77 (38)	0.13-0.22 (39)	
1, 2-dihydrolinalool [†]	0.03-0.10 (15)		
p-menth-1-en-9-ol	nq (16)	t (38)	
p-menth-1(7)-en-9-ol	0-nq (16)		
cis-p-menth-2-en-1-ol	0-0.1 (17)		
p-menth-1,8-dien-9-ol	0-nq (16)	0.01 (38)	
p-menth-4(8)-en-9-ol	0-0.05 (45)		
trans-p-menth-2-en-1-ol	0-0.1 (17)		
trans-p-menth-2, 8-dien-1-ol	0.01* (19)		
α-muurolol	0.01 (38)		
nerol	0.04 (4)	0.82 (5)	0.02-0.04 (6)
	0.02-0.05 (7)	0.14 (8)	0.03-0.04* (9)
	0.028* (12)	0.029* (13)	0.01-0.16 (14)
	0.05-0.27 (15)	0-0.1 (17)	0.01 (19)
	0.035* (21)	0.03* (22)	0.04-0.07 (24)
	0.10* (26)	t (27)	0.17-0.86 (29)
	1.82-4.26 (31)	0.027-0.068* (32)	0.14-0.26 (33)
	t (34)	0.07 (36)	0.0340-0.0686* (37)
	0.06 (38)	0.01-0.07* (39)	
nerolidol	0-nq (16)	0.01 (19)	
nonanol	0.03 (5)	0.005 (14)	



TABLA VI (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. continued

cinnamyl alcohol	t (19)			
citronellol	0.15 (8)	0.03-0.04* (9)	0.028* (12)	
	0.029* (13)	0.01 (14,19)	0.02-0.08 (15)	
	0-nq (16)	0-t (17)	0.035* (21)	
	0.03* (22)	t (25,38)	0.10* (26)	
	0.027-0.068* (32)	0.050 (34)	0.0340-0.0686* (37)	
	0.01-0.07* (39)			
p-cymen-8-ol	0.01 (19)	0-0.11 (31)		
decanol	0.03-0.04 (15)	0.01 (19)		
dodecanol	0-0.17 (31)			
hexadecanol	0-nq (16)	t (38)		
undecanol	nq (19)			
elemol	t (19)			
β-eudesmol	0.01 (19)	0.04-0.06 (31)		
eugenol	t (19)			
(Z,E)-farnesol	t (19)	0-0.03 (31)		
(Z,Z)-farnesol	0-0.08 (31)			
(E,E)-farnesol	t (19)	0-0.05 (31)		
α-fenchyl alcohol	t (25)			
geraniol	0.04 (4,26)	0.93 (5)	0.03-0.05 (6,9)	
	0.02-0.03 (7)	0.10 (8)	0.024 (12)	
	0.061 (13,19)	0.01-0.12 (14)	0-0.1 (17)	
	0.03 (22,38)	0.02-0.10 (24)	t (27)	
	0.18-1.05 (29)	0.28-0.58 (31)	0.018-0.034 (32)	
	0.15-0.19 (33)	0.032 (34)	0.02 (36)	
	0.0267-0.0341 (37)	0.01-0.05 (39)		
	cis-geraniol	0.02-0.03 (16)		
	trans-geraniol	0.01-0.02 (16)		
	germacrene D-4-ol	0.020 (34)		
globulol	0-0.03 (31)			
1-hexen-3-ol	0.04 (5)			
limonenediol	0.01* (19)			
linalool	0.17 (2)	0.14 (4,26)	0.24 (5)	
	0.13-0.21 (6)	0.09-0.20 (7)	0.67 (8)	
	0.10-0.13 (9)	0.115 (12)	0.121 (13)	
	0.08-0.12 (14)	0.16-0.43 (15)	0.23-0.27(16)	
	0.2-0.4 (17)	3.35-13.37* (18)	0.15 (19)	
	0.08-0.3 (20)	0.109 (21)	0.12 (22,27)	
	0.21-0.63 (24)	0.1 (25,30)	0.18-0.46 (29)	
	0.57-1.29 (31)	0.116-0.145 (32)	0.25-0.37 (33)	
	0.108 (34)	0.13 (36)	0.2031-0.2766 (37)	
	0.77 (38)	0.13-0.22 (39)		
	1, 2-dihydrolinalool†	0.03-0.10 (15)		
	p-menth-1-en-9-ol	nq (16)	t (38)	
	p-menth-1(7)-en-9-ol	0-nq (16)		
cis-p-menth-2-en-1-ol	0-0.1 (17)			
p-menth-1,8-dien-9-ol	0-nq (16)	0.01 (38)		
p-menth-4(8)-en-9-ol	0-0.05 (45)			
trans-p-menth-2-en-1-ol	0-0.1 (17)			
trans-p-menth-2, 8-dien-1-ol	0.01* (19)			
α-murolol	0.01 (38)			
nerol	0.04 (4)	0.82 (5)	0.02-0.04 (6)	
	0.02-0.05 (7)	0.14 (8)	0.03-0.04* (9)	
	0.028* (12)	0.029* (13)	0.01-0.16 (14)	
	0.05-0.27 (15)	0-0.1 (17)	0.01 (19)	
	0.035* (21)	0.03* (22)	0.04-0.07 (24)	
	0.10* (26)	t (27)	0.17-0.86 (29)	
	1.82-4.26 (31)	0.027-0.068* (32)	0.14-0.26 (33)	
	t (34)	0.07 (36)	0.0340-0.0686* (37)	
	0.06 (38)	0.01-0.07* (39)		
	nerolidol	0-nq (16)	0.01 (19)	
nonanol	0.03 (5)	0.005 (14)		



TABLA VI (CONTINUACIÓN)
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
POR KIRBASLAR AND BOZ

Turkish Lemon and Grapefruit Peel Oils

Table I. continued

2,3-dimethyl-3-(4-methyl-3-pentenyl)-2-norbornanol	0.017 (12,13) 0.015-0.019 (32) 0.02-0.03 (39)	0.018 (21) 0.021 (34,36) 0.03 (26)	0.02 (22) 0.0072-0.0247 (37)
octanol	0.01 (4,22,26,38) 0.01-0.03 (7,14) 0-nq (16) 0.01-0.06 (29)	0.04 (5) t (12,13, 34,36,39) 0.003 (21)	0.02-0.03 (6) 0.05-0.12 (15) 0.06-0.15 (24)
2,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol	0-nq (16)	0.041 (39)	
isopulegol	0.03-0.40 (15)	0.09-0.14 (31)	
trans-piperitol	t (14)		
cis-sabinene hydrate	0.04-0.12 (9) 0.05-0.21 (15) 0.034 (21) 0.061-0.085 (32) 0.05-0.08 (39)	0.101 (12) 0.03-0.04 (16) 0.04 (22,26) 0.0892-0.1067 (37)	0.038 (13,34) 0.07 (19) 0.05 (27,36) 0.03 (38)
trans-sabinene hydrate	t (9) 0.01-0.16 (15) nq (19) 0.05 (26) 0.0965-0.1373 (37) 0.009 (34)	0.043 (8) 0.12-0.14 (16) 0.041 (21,27) 0.067-0.101 (32) 0.07 (38)	0.084 (12) t-0.1 (17) 0.03 (22) 0.024 (34) 0.04-0.10 (39)
selin-11-en-4- α -ol	0.009 (34)		
spathulenol	0-0.1 (17)	0.01 (19)	0-0.09 (31)
terpinen-1-ol	0.05-0.08 (31)		
terpinen-4-ol	0.35 (2) 0.07-0.16 (6) 0.02-0.05 (9) 0.06-0.10(14) 0.8-4.10 ^a (18) 0.037 (21) 0.7 (25) 1.17-1.88 (31) 0.05 (34,36)	0.14 (4) 0.05-0.06 (7) 0.030 (12) 0.02 (16,38) t (19) 0.04 (22) 0.07 (26) 0.023-0.034 (32) 0.0368-0.0431 (37)	0.45 (5) 1.34 (8) 0.038 (13) t-0.1 (17) 0.01-0.40 (20) 0.04-0.06 (24) 0.34-0.67 (29) 0.18-0.35 (33) 0.02-0.04 (39)
α -terpineol	0.18 (2) 0.17-0.27 (6) 0.11-0.14 (9) 0.41-0.84 (14) 0.2-0.4 (17) 0.166 (21) 1.4 (25) 0.41-0.86 (29) 0.233-0.301 (32) 0.27 (38)	0.22 (4) 0.09-0.23 (7) 0.30 (12,19) 0.02-0.05 (15) 5.63-11.87 ^a (18) 0.16 (22) 0.19 (26) 0.1 (30,33) 0.23 (36) 0.16-0.37 (39)	0.65 (5) 2.00 (8) 0.196 (13) 0.26-0.31 (16) 0.2-0.5 (20) 0.21-0.63 (24) 0.15 (27) 2.19-2.92 (31) 0.3415-0.4707 (37)
β -terpineol	0.1 (25)	0.09-0.21* (31)	
thymol	0-1 (17)	0.01 (19)	0-0.04 (31)
methyl thymol	0-0.05 (15)	-	
verbenol	nq (16)	0.01* (38)	
Aldehydes			
cis-isocitral	0-0.75 ^a (18)		
trans-isocitral	2.74-4.99 (18)		
cinnamaldehyde	t (19)		
citronellal	0.07 (4) 0.18 (8) 0.083 (13) 0.06-0.07 (16) 0.03 (19) 0.09 (22, 38) 0.04-0.08 (29) 0.079 (34)	0.06 (5,7,27) 0.08-0.12 (9) 0.08-0.14 (14) t-0.2 (17) 0.03-0.2 (20) 0.06-0.16 (24) 0.060-0.109 (32) 0.1543-0.1918 (37)	0.08-0.09 (6) 0.076 (12) 0.30-0.41 (15) 0.94-2.94 ^a (18) 0.099 (21) 0.10 (26,36) 0.10-0.22 (33) 0.07-0.33 (39)
cuminaldehyde	0.02 (19)		



TABLA VI (CONTINUACIÓN)
COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN
POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. continued

decanal	0.04 (4,21,27) 0.02-0.06 (7) 0.038 (13) 0-1 (17) 0.06-0.20 (20) t (25) 0.026-0.054 (32) 0.02-0.22 (39)	0.03 (5) 0.04-0.06 (9) 0.19-0.34 (15) 0-1.11 ^a (18) 0.05 (22,38) 0.06 (26,36) 0.054 (34)	0.05-0.07 (6,14) 0.044 (12) 0.04-0.08 (16) 0.01 (19) 0.01-0.10 (24) 0.03-0.05 (29) 0.0887-0.0949 (37)
(E)-2-decenal	0-nq (16)	0.01 (19)	t (38)
dodecanal	0.02 (4,19) 0.01 (14,22,26,36) 0.0168-0.0202 (37) 1.6 (2) 1.21-1.70 (6) 1.09-1.27 (9) 0.88-1.77 (14) 1.0-2.9 (17) 0.6-2.3 (20) 0.81-3.56 (24) 0.56-1.23 (29) 1.489-2.428 (32) 1.44 ^a (36) 0.68-4.16 ^a (39)	0.02-0.03 (6) 0-4.45 ^a (18) 1.22 (4) 0.68-1.28 (7) 1.532 (12) 0.03-0.11 (15) 42.3-65.36 ^a (18) 1.490 ^a (21) 1.34 ^a (26) 1.30 (30) 1.22-2.45 (33) 2.0537-3.0019 ^a (37)	0.007-0.02 (7) 0.1 (20) 1.59 (5) 1.21 (8) 1.554 (13) 2.48-2.57 (16) 1.13 (19) 1.32 ^a (22) 1.45 (27) 2.39-5.43 (31) 1.176 ^a (34) 0.65 (38)
geranial	0.004 (6) 0.22 (8) 0-0.04 (31) 0.78 (2) 0.74-1.07 (6) 0.67-0.73 (9) 0.54-1.06 (14) 0.5-1.5 (17) 0.4-1.3 (20) t (25) 0.38-0.90 (29) 0.60-1.49 (33) 1.2025-1.7643 (37) 0.12 (4,13) 0.06 (7) 0.08-0.13 (14,15) 0.54-1.91 ^a (18) 0.107 (21) 0.13 (26) 0-0.18 (33) 0.1593-0.2566 (37)	t (7)	0.0027-0.0038 (37)
heptanal	0.004 (6)	0.76 (4,22)	1.22 (5)
hexanal	0.22 (8)	0.41-0.84 (7)	0.64 (8)
myrtenal	0-0.04 (31)	0.941 (12)	0.935 (13)
neral	0.78 (2) 0.74-1.07 (6) 0.67-0.73 (9) 0.54-1.06 (14) 0.5-1.5 (17) 0.4-1.3 (20) t (25) 0.38-0.90 (29) 0.60-1.49 (33) 1.2025-1.7643 (37) 0.12 (4,13) 0.06 (7) 0.08-0.13 (14,15) 0.54-1.91 ^a (18) 0.107 (21) 0.13 (26) 0-0.18 (33) 0.1593-0.2566 (37)	0.41-0.84 (7) 0.941 (12) 0.98-2.11 (15) 30.3-45.45 ^a (18) 0.866 (21) 0.79 (26) 0.27-1.06 (31) 0.701 (34) 0.74 (38) 0.08 (5) 0.08-0.12 (9) 0.17-0.18 (16) 0.14 (19) 0.10 (22,38) 0.05 (27) 0.129 (34) 0.01-0.12 (39)	0.59-0.77 (16) 0.61 (19) 0.57-1.98 (24) 0.73 (27) 0.914-1.519(32) 0.86 (36) 0.41-2.47 (39) 0.21-0.27 (6) 0.082 (12) 0.1-0.3 (17) 0.09-0.3(20) 0.02-0.32 (24) 0.10-0.13 (29) 0.16 (36)
2-nonenal	0.02 ^b (5)	0.04 (5,19,22)	0.10-0.14 (6)
octanal	0.07 (4) 0.04-0.09 (7) 0.111 ^a (13) 0.06-0.13 (16) 0.118 ^a (21) 0.05 (26) 0.092-0.142 ^a (32) 0.1287-0.1456 (37) 0.02-0.03 (14) 0.04 (19) 0.02-0.03 (24) 1.44 ^a (36) 0.68-4.16 ^a (39)	0.16-0.21 ^a (9) 0.03-0.06 (14) 0-0.1 (17) 0.02-0.11 (24) t (27,38) 0.061 (34) 0.03-0.04 (39) 0.05-0.18 (15) 1.49 ^a (21) 1.34 ^a (26) 2.0537-3.0019 ^a (37)	0.12-0.25 (15) 0.10-0.15 (20) 0.1 (25) 0.06-0.07 (29) 0.08 (36) 0.07-0.09 (16) 1.32 ^a (22) 1.176 ^a (34) 0.03 (38)
perillaldehyde	0.02-0.03 (14) 0.04 (19) 0.02-0.03 (24) 1.44 ^a (36) 0.68-4.16 ^a (39)	0.04-0.09 (31) 0.01 (22)	0.0322-0.0394 (37)
α-sinensal	0-nq (16)		
β-sinensal	0.03 (5)		
tetradecanal	t (19,26,36) 0.01-0.05 (39)		
tetradecenal	nq (19)		



TABLA VI (CONTINUACIÓN)

COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN POR KIRBASLAR AND BOZ

Kirbaşlar et al.

Table I. continued

<i>Oxides</i>			
caryophyllene oxide	0-0.3 (17,19)	0-0.18 (31)	
isocaryophyllene oxide	0.01 [†] (19)		
<i>cis</i> -limonene oxide	nq (16)	0-0.5 (17)	0.07 (19)
	0.01 (22,26)	0-0.11 (31)	t (34,36,39)
<i>trans</i> -limonene oxide	nq (16)	0-0.6 (17)	0.04 (19)
	0.01 (22,26,36)	0.05-0.12 (31)	t (34)
	0.0043-0.0065 (37)	t-0.01 (39)	
<i>cis</i> -limonene epoxide	0.07-0.38 (15)		
<i>cis</i> -limonene-8, 9-epoxide	t [†] (19)		
<i>trans</i> -limonene-8, 9-epoxide	0.01 [†] (19)		
<i>trans</i> -linalool oxide	0-t [†] (17)		
myrcene epoxide	t [†] (19)		
α -pinene oxide	0-0.33 (31)		
<i>Others</i>			
camphor	nq (16, 19)	0.01 (22)	t (26,34,36,38)
	0.0151-0.0188 (37)	t-0.01 (39)	
carvone	0.007 (4,7)	0.006-0.008 (6)	0.04 (20)
	0.0017-0.0029 (37)	0.41-2.47 [†] (39)	
<i>cis</i> -carvone	nq (19)		
<i>trans</i> -carvone	t (19)		
1,4-cineole	0.13-0.36 (15)		
1,8-cineole	3,3 (25)	65,227 [†] (34)	
decanoic acid	t (19)		
pentadecane	nq (16,19)		
tetradecane	nq (16)	t (19)	
tridecane	nq (16)		
1-tetradecene	nq (16)		
menthone	0.01 (19)	0-0.03 (31)	
6-methyl-5-hepten-2-one	0.002 (4)	t (6,7,19,21,22,26,27,34,39)	0-t (17)
	0.06 (20)	0.07-0.20 (31)	0.01 (36)
methylnaphthalene	0.03-0.10 [†] (31)		
neryl acetone	nq (16)		
2-nonanone	t (19)		
nootkatone	0.005-0.03 (13)	0.01-0.03 (14)	0.01 (22,26,38)
	0.021 (34)	t (36)	t-0.01 (39)
piperitone	t (22,26,34,36,39)	0.0053-0.0070 (37)	
pulegone	0-0.24 (24)		
solanone	0-nq (16)		
undecanoic acid	t (19)		
verbenone	0.04-0.05 (31)		

t = trace; nq = not quantitated; † does not occur naturally; *n-terpinene + β -phellandrene; †correct isomer not characterized; †octanal + α -phellandrene; *sabinene + β -pinene; †nerol + citronello; †tentatively identified; †milligrams per kilogram of essential oil; †geraniol + perillaldehyde; β -santalene + (Z)- β -farnesene; †p-cymene + limonene; †(E)- β -farnesene + β -santalene; †THF; † β -phellandrene + p-cymene; †p-cymene + β -phellandrene + 1, β -cineole + limonene; †octyl acetate + nerol; †trans- α -bergamotene + β -caryophyllene; †neral + carvone

This study is a part of a continuing research program on the *Citrus* oils of Turkish origin. Turkey is one of the main exporters of *Citrus* to European countries. Also, Turkey produces about 12% of the lemon and 2% of the grapefruit in the world (48). We report here the results of the analysis of the peel oil of Turkish origin lemon and grapefruit. Although the compositions of the lemon and grapefruit peel oils cultivated in other producer countries have been thoroughly studied by various researchers, data regarding the composition of Turkish origin lemon and grapefruit peel oils have not been

reported and in this sense, is still informative for the cultivars and flavor scientists.

Experimental

The samples of lemon and grapefruit fruits were collected from a commercial *Citrus* plantation (Antalya) in November 2003. The peel of fresh fully ripe fruits was cold-pressed, and then the oil was separated from the crude extract by centrifugation (20 min at 6000 rpm) and dried over anhydrous Na₂SO₄ and stored at -18°C until analysis.



APÉNDICE C. MÉTODOS OPERACIONALES

En esta sección se mostrara de manera detallada los procedimientos utilizados para la operación de los equipos de extracción.

Método operacional para fluido supercrítico

1. Se encendió el compresor mediante el interruptor S-1, esperar un tiempo aproximado de 15 minutos hasta que el indicador de presión PI-1 ubicado a la salida del compresor registre una presión de 125 psi y se abrió la HV-3.
2. Se enchufo y puso en marcha el baño de enfriamiento TI-1 colocando en posición de encendido los interruptores S-2 y S-3.
3. Se abrió la válvula de salida HV-5 del baño de enfriamiento.
4. Se abrió la válvula HV-4 del cilindro de CO₂ y verificar que el indicador de presión PI-2 registre una presión superior a 500 psi, en caso contrario sustituir el cilindro por uno que se encuentre cargado.
5. Posteriormente se tomó una de las muestras de 60 g de limón eureka pre-pesadas y se pesó el recipiente recolector de aceite esencial.
6. Se Introdujo la muestra pre-pesada de limón en el cilindro extractor en el siguiente orden: 180 metras relleno, guata y a continuación se colocan aproximadamente 60 g de limón eureka y por último se coloca nuevamente la guata y se cierra el cilindro extractor.
7. Se Verifico que se alcanzó una temperatura de 0°C en el indicador de TI-1 instalado en el baño de enfriamiento y la recirculación del refrigerante a través del mismo.
8. Se Introdujo el cilindro extractor dentro del horno del equipo de extracción y conectar las tuberías de entrada y salida de CO₂, asegurando dichas conexiones con teflón para asegurar la inexistencia de fugas e introducir la termocupla en el orificio superior del cilindro extractor.
9. Se acciono el interruptor S-5 para poner en funcionamiento la bomba de alta presión.



10. Se cerró la compuerta del equipo de extracción supercrítica, poner en marcha el horno del mismo colocando en posición de encendido el interruptor principal S-4 y ajustar las temperaturas del horno y de la válvula micrométrica a las condiciones deseadas en los controladores TC-7 y TC-5 respectivamente y posteriormente colocar los interruptores S-5 y S-6 en posición de encendido.
11. Se abrió ligeramente VRP.
12. Se abrió HV-6 para alimentar CO₂ al cilindro de extracción.
13. Luego se verifico la no existencia de fugas en las conexiones del cilindro extractor empleando una solución jabonosa, de detectarse cerrar la las válvulas HV-6 y HV-4 para suspender la alimentación de CO₂ al cilindro extractor, abrir la válvula HV-7 para despresurizar el cilindro, desmontar y descargar el cilindro y realizar nuevamente el montaje del experimento ajustando bien las conexiones, alcanzar de nuevo las condiciones de operación y realizar nuevamente las pruebas de fugas.
14. Luego de alcanzada la temperatura deseada para la operación, se abrió la válvula VPR hasta alcanzar la presión deseada, obtenida las condiciones de operación requeridas, se registró el inicio del tiempo estático de extracción.
15. Se recubrió el recipiente recolector con una malla metálica y se sujeto fuertemente.
16. Se ajustó el recipiente recolector acoplado al sistema de descarga del equipo de extracción con CO₂ supercrítico.
17. Seguidamente se sumergió el equipo recolector en un baño refrigerante de agua y sal.
18. Después de concluir el tiempo de extracción estático, se abrió la válvula de salida de CO₂ VM y se ajustó el flujo de CO₂ con la válvula micrométrica VM hasta alcanzar las condiciones de flujo de CO₂ deseado.
19. Se inició un nuevo conteo de tiempo, correspondiente al tiempo de extracción dinámico.



20. Al concluir el tiempo de extracción dinámico se cerró la válvula de salida de CO₂ HV-6 y la válvula de alimentación de CO₂ HV-4.
21. Se cerró la válvula VRP.
22. Se apagó la bomba de alta presión, colocando en la posición de apagado el interruptor S-4.
23. Se apagó el baño de enfriamiento, colocando en posición de apagado los interruptores S-2 y S-3 y desenchufar.
24. Se apagó los controladores de temperatura de la válvula micrométrica y del horno colocando en posición de apagado los interruptores S-5 y S-6.
25. Se apagó el panel de control, colocando en posición de apagado el interruptor S-7.
26. Se realizó la descompresión del sistema abriendo la válvula de ventilación HV-7.
27. Se retiró el recipiente recolector.
28. Se pesó el recipiente recolector.
29. Una vez despresurizado y enfriado el cilindro extractor se desajusto las conexiones de entrada y salida de CO₂ y se retiró la termocupla.
30. Se Extrajo el cilindro extractor del equipo de extracción con CO₂ supercrítico y se colocó sobre el soporte para evitar daños al tornillo de la parte inferior.
31. Se retiró con mucho cuidado la tapa del cilindro extractor y se extrajo con cuidado la muestra resultante de la extracción, se retiró la guata y metras, se limpió el interior del cilindro, y las metras.
32. Finalmente se hizo pasar una solución 50/50 de éter de petróleo y n – hexano a través de las tuberías de descarga del equipo con una inyectora ajustable, para limpiar cualquier residuo que pudo quedar de la extracción (Matute y Quiroga, 2003).



Método operacional para arrastre por vapor

1. Se colocó los interruptores del baño refrigerante-circulante en la posición de encendido.
2. Se agregaron 2 litros de agua en el recipiente de acero inoxidable donde se colocó la rejilla metálica cubierta de guata en la parte interior del recipiente.
3. Se agregó 90 gramos de piel de limón Eureka sobre la guata y se cierra la tapa del recipiente de acero inoxidable.
4. Se generó vapor colocando el recipiente de acero inoxidable sobre la plancha de calentamiento, acoplado la trampa Clevenger al recipiente de acero inoxidable y en el otro extremo se colocó el condensador vertical; donde también se acopló las mangueras del baño refrigerante-circulante a la entrada y salida de la trampa Clevenger y el condensador vertical respectivamente.
5. Se pesó el envase vacío donde se conservará el aceite esencial extraído.
6. Se esperó que la temperatura del baño refrigerante-circulante sea 0 °C, donde acopla el termómetro al recipiente de acero inoxidable.
7. Se encendió la plancha de calentamiento.
8. Se esperó que condensara la primera gota en la columna y registró el tiempo de extracción, transcurrido 25 minutos se apagó la plancha de calentamiento y se desmontó la columna Clevenger.
9. La fase orgánica se extrajo por medio de una operación de decantación.
10. Se colocó en el envase recolector, se agregó el sulfato de sodio anhidro al aceite extraído.
11. Se llenó el envase recolector con aceite esencial extraído secado para pesar el envase lleno.
12. Por último se añadió un cristal de butil hidroxitolueno (BHT) para evitar la oxidación del aceite esencial extraído y se refrigeró; finalmente se desmontó el equipo y se limpia el área de trabajo (Pérez, 2011).