

29  
28  
J



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO TECNOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DE  
UN ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE TE LIMÓN  
(*Cymbopogon* s.p.)



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

## T E S I S

Que para obtener el título de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
p r e s e n t a

LAURA SUSANA GODINEZ RUIZ

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1988



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	PAG.
CAP. I, INTRODUCCIÓN -----	1
CAP. II, OBJETIVO -----	4
CAP. III GENERALIDADES -----	5
1. ASPECTOS GENERALES DE LOS ACEITES ESENCIALES -----	5
2. ASPECTOS GENERALES SOBRE EL TE LIMON-----	15
A.i) Condiciones Climáticas -----	16
A.ii) Recolección -----	17
A.iii) Secado -----	17
A.iv) Almacenamiento -----	18
3. COMPOSICION QUIMICA DE LAS PLANTAS -----	18
4. IMPORTACIONES - EXPORTACIONES -----	19
5. USOS -----	19
6. ACEITE ESENCIAL DE TE LIMON -----	21
7. METODOS DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES -----	27
8. PRODUCCION DE ACEITES ESENCIALES-----	32
9. METODO DE DESTERPENACION DE ACEITES ESENCIALES -----	35
10. LAVADO DE ACEITES ESENCIALES -----	36
11. ALMACENAMIENTO DE ACEITES ESENCIALES -----	37
12. CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL -----	38

	PAG.
CAP. IV	
DESARROLLO EXPERIMENTAL -----	44
1. CLASIFICACION BOTANICA -----	44
2. PREPARACION DE LA MATERIA PRIMA -----	44
3. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LA MATERIA PRIMA -	45
4. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL DE LA MATERIA PRIMA. -----	48
5. DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE LA EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL -----	51
6. OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL -----	53
7. FRACCIONAMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO -----	53
8. DESCRIPCION DEL PERFIL SENSORIAL -----	56
9. EVALUACION FISICOQUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL -----	57
A.i) Gravedad específica -----	57
A.ii) Índice de refracción -----	58
A.iii) Solubilidad en Alcohol -----	59
A.iv) Análisis por Cromatografía de Gases -----	60
A.v) Determinación Cuantitativa de Aldehídos (como Citral) en el Aceite Esencial. -----	63
10. APLICACION DEL ACEITE ESENCIAL EN FORMULACIONES. -----	64
11. EVALUACION SENSORIAL DE LOS PRODUCTOS ELABORADOS. -----	72
CAP. V.	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	83

	PAG.
CAP. VI	
CONCLUSIONES -----	127
CAP. VII	
RECOMENDACIONES -----	128
CAP. VIII	
BIBLIOGRAFÍA -----	129

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La industria requiere de la adición de ciertos compuestos químicos que permitan al tecnólogo un mayor control de las variables que intervienen en la producción de alimentos. Uno de estos compuestos son los aditivos, que se añaden al alimento para su conservación, para aumentar su valor nutritivo, impartirle sabor u olor y mejorar su textura, por lo que un aditivo se puede definir como "sustancia o mezcla de sustancias que están presentes como resultado de su adición premeditada para mejorar alguna característica del alimento". (6).

Entre estos aditivos se encuentran los antioxidantes, conservadores, colorantes, acidulantes, emulsificantes, agentes de blanqueo, humectantes, edulcorantes, vitaminas, aminoácidos y los saborizantes. Cualquier sustancia que modifique el sabor de un producto o enmascare uno indeseable, se considera un agente saborizante (6).

Para un mejor control de los saborizantes, se han clasificado en varias categorías (38):

- a) Saborizantes naturales, los cuales son o se derivan de constituyentes naturales de alimentos, como son frutas o nueces (semillas).
- b) Sustancias naturales, consisten en derivados de vegetales, hierbas y especias, para ser usadas en pequeñas cantidades.
- c) Sustancias artificiales y sintéticas, aceptadas para adición en alimentos, sujetas a uso limitado y provisional.

Los saborizantes que son clasificados como "GRASS" generalmente están reconocidos como seguros por la legislación de alimentos de U.S.A. Esto se basa en la presentación de información detallada, como lo es el intento de uso y el nivel de dosificación principalmente. Estos resultados son evaluados por un panel de expertos, los cuales declaran si el aditivo en cuestión, puede ser aceptado o no (10).

Uno de los principales aditivos, que son ampliamente usados, tanto a nivel nacional como internacional, son los aceites esenciales.

Los "aceites esenciales" o "aceites etéreos" son definidos como "aceite volátil obtenido por la destilación, expresión o extracción con solvente a través de sus glándulas" (11). Los aceites son sintetizados por las plantas durante su desarrollo. Cerca de 2000 especies de plantas producen aceites esenciales; las que en su mayoría son pináceas, umbilíferas, mirtáceas, lauráceas, rutáceas, labiadas y compuestas.

Muchos de estos aceites se emplean para dar sabor a los alimentos, bebidas, productos farmacéuticos, cosméticos, irritantes locales, parasitocidas, antisépticos urinarios y antihelmínticos, entre otros (21).

Con excepción de las capsicums, todas las hierbas y especies dependen de distintos y generales diagnósticos de aroma y componentes, los cuales contienen un rango de menos de 1% en algunas hierbas, hasta un 18% en botones de clavo.

Estos vapores de compuestos volátiles pueden ser recobrados del material celular inerte por destilación del material cosechado (11).

Una de las principales funciones que poseen los aceites esenciales en las plantas, es protección contra la degradación de animales y plantas parásitos, es por esto que el aceite está provisto de un efecto irritante. En algunas especies, se mantiene como reserva de alimentos, para prevenir - excesiva evaporación de agua, y para ayudar a la polinización a través de la visita de insectos (5).

Uno de los principales aceites que son empleados en el mundo es el de - "Té Limón" (*Cymbopogon citratus* y *Cymbopogon flexuosus*), donde la primera variedad de *C. citratus*, es la especie predominante en América, su principal componente y el que se encuentra en mayor cantidad es el Citral, cuyo contenido es de 50% a 80% (14, 7).

Los métodos de extracción utilizados para su obtención, son básicamente - por destilación (agua, agua y vapor), los cuales son métodos sencillos y económicos comparados con otros métodos de extracción (6).

Para un análisis más completo de los aceites esenciales, existen diversidad de técnicas físicas y químicas para determinar la calidad del aceite, que pueden ser realizadas con aparatos tan simples hasta con los más sofisticados, esto dependerá de las posibilidades de las compañías y del - uso que se le quiera dar finalmente.



## CAPÍTULO II

### OBJETIVO

En el presente trabajo se persigue el siguiente objetivo:  
obtención del aceite esencial del "Té Limón" (Cymbopogón -  
Citratu) y su factibilidad de producción a gran escala.

### CAPÍTULO III GENERALIDADES

#### 1. ASPECTOS GENERALES DE LOS ACEITES ESENCIALES (5,14).

Los aceites esenciales son mezcla de compuestos muy diferentes. Los principales componentes de los aceites son los terpenos, sesquiterpenos y diterpenos, y pueden encontrarse alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, acetonas, lactonas y fenoles.

La palabra "Terpeno" se designa a la estructura que está relacionada con la función de dos o más isoprenos ( $C_5H_8$ ) y en sentido estricto los componentes de 10 átomos de carbono derivados de  $C_{10}H_{16}$ .

Los hidrocarburos acíclicos e isocíclicos, derivados oxigenados los cuales son característicos de cada tipo de planta de la cual proviene, y son los siguientes:

- a) Terpenos, relacionados al isopreno e isopenteno ( $C_5H_8$ ) n.
- b) Compuestos en posición de cadenas.
- c) Derivados oxigenados de los hidrocarburos.
- d) Compuestos que contienen nitrógeno o azufre.

Algunos aceites esenciales contienen hidrocarburos de fórmula general  $C_{10}H_{16}$ , y el grupo con oxígeno  $C_{10}H_{18}O$ , además, no todos los terpenos están representados por  $C_5H_8$ , existen terpenos de cadena larga, y que en ocasiones son indeseables, por lo que son eliminados, ya que pueden afectar de diversas formas al producto final. Entre ellos tenemos:

Los que provocan cambios de color, sabor y aroma, producido por la oxidación de estos compuestos, desarrollando otros que resultan tóxicos para el ser humano, como lo son la carvona, safrol, cafeína,  $\beta$ -tujone, cumarina, pulegone, hipercine, metilnonilcetona (17,28), además al eliminar estos compuestos indeseables se podrán almacenar por largos periodos.

Para evitar confusiones, todos los compuestos del grupo  $C_{10}$  se nombran monoterpenos (alifáticos). Los sesquiterpenos son los que se encuentran con una estructura de un anillo cerrado, como lo tenemos con el cadinene (bicíclico).

El mayor grupo de compuestos derivados del benceno, son específicamente los llamados n-propilbenceno, los cuales son encontrados en muchas de las etapas de oxidación. El anillo aromático puede llevar grupos hidroxil, metoxil e hidroxil o carbonil, o formar parte del grupo lactona, como es la cumarina y algunos de sus derivados.

La separación se complica por la gran diversidad de componentes, que en ocasiones se comportan por su parecido en su estructura, similarmente.

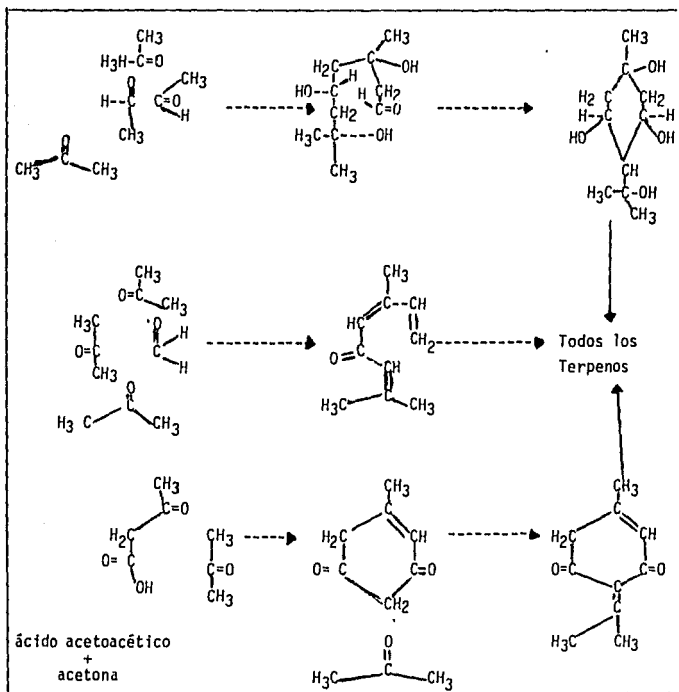
Las características de cada aceite, dependerá sobre todo, de la planta de la cual proviene, además de las condiciones ambientales durante su desarrollo, cosecha, secado, preparación, almacenamiento y manejo antes y después de la extracción del aceite.

En la Figura 1 se presenta la síntesis del terpeno partiendo de acetona, acetaldehído y ácido acético. Los que se unen al ácido acetoacético con dos moles de acetona para obtener los terpenos monocíclicos. Los terpenos

monocíclicos. Los terpenos alifáticos son formados por enlaces de tres moles de acetona con una de formaldehído.

El esquema similar, usando dos moléculas de acetona y dos moléculas de acetaldehído, es publicado por Singleton y Smedley-Mas-Lean (14).

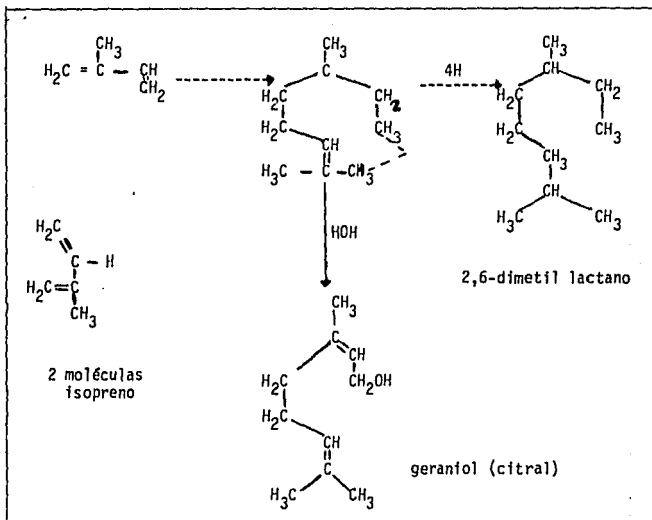
FIGURA 1. SINTESIS DE TERPENOS.



(14) Guenther Ernest. The Essential Oils. Vol.I. 1952.

Existen síntesis para obtener diferentes aceites esenciales, uno de ellos, se presenta en la Figura 2 y en la Figura 3.

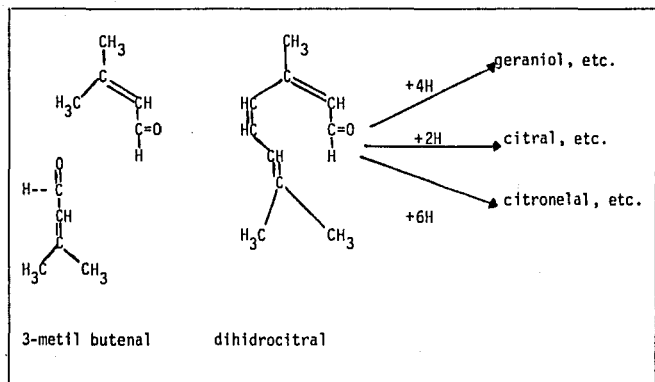
FIGURA 2. DIMERIZACION DEL ISOPRENO.



(14) Guenther Ernest. The Essential Oils. Vol. I. 1952.

La reacción anterior se lleva a cabo por una condensación del isopreno bajo condiciones con amalgama sódica, para obtener el terpeno hidrocarbonado 2,6-dimetil lactano, condensando dos moléculas de isopreno en presencia de ácido sulfúrico (condensación Wagner-Jauregg) y ácido acético. Bajo estas condiciones el agua es adicionada para los dobles enlaces y el geraniol puede ser aislado de la mezcla de condensación.

FIGURA 3. SINTESIS DE TERPENOS A PARTIR DE 3-METIL BUTENAL



(14) Guenther Ernest. The Essential Oils. Vol. I. 1952.

De la reacción anterior se puede decir lo mismo de la síntesis con el precursor 3-metil butenal. Este compuesto puede muy bien satisfacer las condiciones o demandas para reactivos precursores.

En experimentos in vitro del 3-metilbutenal con grupos carbonílicos conjugados y doble enlace, claramente se demuestra gran facilidad para reaccionar con otras moléculas (14).

La obtención de estos aceites esenciales, se lleva a cabo por medio de un método general que es la destilación de estas plantas aromáticas.

Posteriormente, este aceite se somete a una "fraccionación" para la eliminación de compuestos indeseables, que afectan la calidad del aceite.

Los aceites esenciales, son líquidos, algunos de los cuales pueden cristalizar y solidificar enfriándolos. Las muestras pueden ser primeramente evaluadas por la apariencia (ej. color, claridad) preferentemente comparados con una muestra de reserva, seguido por una evaluación del aroma, sabor en un jarabe con azúcar diluido. (34).

Se realizan además, algunas pruebas, como:

a) Pruebas Generales.

- Gravedad específica (normalmente a 25°C / 25°C ) o corregida a alguna otra temperatura, o por peso por ml a 20°C.
- Índice de Refracción (IR) a 20°C.
- Rotación óptica (RO) a 20°C.
- Solubilidad en Alcohol a una dilución específica.

b) Pruebas de aplicación limitada, se pueden llevar a cabo sólo si se cuenta con el equipo necesario.

- Rango o punto de ebullición (°C).
- Punto de fusión (°C).
- Punto de congelación (°C).
- Punto flash: abierto o cerrado (copa) en °F o °C.

c) Pruebas instrumentales.

- Cromatografía de gas-líquido para establecer identidad u origen, detectar adulterantes, cambios composicionales y para el control de calidad.

También se usan cromatógrafos de gases.

- Espectroscopía infrarroja.
- Espectrofotometría ultravioleta.

d) Pruebas específicas para constituyentes.

- Acetatos.
- Valor de acidez.
- Alcoholes: método de acetofornilación, alcoholes totales, alcoholes terciarios, citronelal por formilación.
- Aldehídos y cetonas: método del bisulfito, método neutro del sulfito, - método de fenilhidrazina, método de hidroxilamina.

e) Pruebas específicas para compuestos clorinados.

- Esteres: método general, del solvente a alto punto de ebullición.
- Metales pesados.
- Fenoles: libres, totales.

f) Pruebas específicas para aceites cítricos.

- Absorbancia U.V.
- Residuo de evaporación.
- Valor de peróxido.
- Aceites extraños.
- Detección de un atributo de estímulos.
- Reconocimientos del estímulo.
- Detección de diferencias.



En los saborizantes, se tiene un estricto control sobre toxicidad y seguridad en su uso, para lo cual existen varios organismos reguladores.

En muchos países europeos, en los Estados Unidos y Canadá, la corporación - de miembros de la Industria de Saborizantes ha tenido que fundar asociaciones para salvaguardar estos intereses.

La necesidad de estas asociaciones gubernamentales, viene más a involucrar con legislación en seguridad de alimentos, el cual en turno, impone limitaciones en las actividades de saborizantes suplentes.

En Estados Unidos en 1906 se introdujo una regulación de materiales para - ser usados en los alimentos e industrias farmacéuticas; estas leyes fueron derogadas posteriormente, cuando en 1938 fué cedido por la Federal Food - Drug y Cosmetic Act. (FDCC), contándose posteriormente con nuevas regula - ciones. En países de habla inglesa, las agrupaciones más antiguas son: - Asociación Manufacturera de Saborizantes y Extractos de los Estados Unidos (FEMA) y la Asociación Manufacturera Inglesa de Esencias (BEMA).

En México se encuentra una organización nacional de la Industria de Sabori - zantes, cuyo nombre es Asociación de Fabricantes de Productos Aromáticos, A.C.

Se tienen listas en donde se incluyen las sustancias reconocidas como se - guras, una de ellas, es la "Lista de Referencias de Sustancias Saborizan - tes en Uso en U.S.A.", en donde se puede encontrar, el número de clasifi - cación dentro de estas organizaciones mundiales, como (10):

FEMA - Asociación Manufacturera.

FDA - Administración de Alimentos y Medicamentos.

CoE - Consejo Europeo.

SLR<sub>2</sub> - Revista de Literatura Científica.

NTIS - Servicio Nacional de Información Técnica.

Para evitar cambios químicos en los aceites, ya que contienen los terpenos que se oxidan fácilmente, su almacenamiento se deberá llevar a cabo en el lugar adecuado, debe ser fresco ( $65^{\circ}\text{F}$  [ $15^{\circ}\text{C}$ ]  $\pm$   $5^{\circ}\text{F}$ ), llevado por acondicionamiento de aire si es necesario, alejado de calentadores, radiadores, etc.

Los factores que deterioran al aceite son:

- Presencia de humedad, que tiene un efecto de arrojar fuera los constituyentes con una desagradable neblina en un producto, el cual podría ser bastante claro y brillante.
- Acción de la luz, que oscurece y resinifica los saborizantes que contienen colorantes, se decoloran bajo estas condiciones.
- Temperatura ambiental, que afectará la solubilidad de algunos constituyentes de los saborizantes líquidos, puede ser crítico para el almacenaje bajo estas condiciones, puede resultar nuboso el producto.
- Oxígeno atmosférico, causa degradación oxidativa particularmente en aceites de cítricos, donde el contenido de terpenos es alto y en emulsiones de tales aceites donde el agua también contribuye a la reacción.
- Trazas de metales, como cobre, hierro y estaño, son capaces de reaccionar con algún ácido y ciertos grupos funcionales para producir olores

y sabores indeseables.

- Acción microbiana, es debido al crecimiento de levaduras y bacterias, común en los productos elaborados a base de frutas, ocurriendo fermentación con el desarrollo de malos olores y producción de gas. El color de los productos es también afectado.
- Materiales de empaque, en donde se tienen gran variedad de envases propios para la conveniencia y almacenado de materiales saborizantes, los más importantes son:
  - . Madera, son extensivamente usados en destiladoras, para transportación de cerveza, pero estos se han usado ampliamente para moldear por fuera un envase para materiales saborizantes.
  - . Plata y estaño, son empaques estándar de muchos productos de acción corrosiva y para pequeñas cantidades de aceites esenciales.
  - . Acero, que son aprovechados en un amplio rango de tamaños con un abrigo convencional de estaño, laca o PVC, no son caros.
  - . Aluminio, son producidos en límites de tamaño en ambos planos y formas que están internamente laqueados.
  - . Plásticos, que pueden ser obtenidos de diferentes tipos de material plástico.

Los aceites esenciales tienen una potencia o intensidad de hasta 100 veces mayor con respecto a su correspondiente fuente de origen, se usan en concentraciones de un 0.01% del producto final (6).

Se tiene una gran diversidad de usos de los aceites esenciales que pueden ser desde saborizantes hasta cosméticos, entre otros usos (17).

## 2. ASPECTOS GENERALES SOBRE EL TÉ LIMÓN.

Existen en el mundo diferentes variedades conocidas e identificadas. Las más importantes son las siguientes (14,7):

- a) Tipo East Indian como la *Cymbopogon flexuosus* (D.C.) Staft.
- b) Tipo West Indian como la *Cymbopogon citratus* (D.C.) Staft.

Estos tipos han sido nombrados variablemente también como *Andropogon nardus* var. *flexuosus* Hack o *Andropogon nardus* var. *ceriferus* Hack o *A. citratus* D.C., respectivamente.

El aceite tipo East Indian, es un líquido de color amarillo oscuro o café oscuro y olor pungente, característico, que recuerda el limón. Crece en la India, Camboya, Singapur y Ceylan principalmente.

El aceite tipo West Indian, es un líquido de color amarillo pálido o café sáceo y un pronunciado aroma a Citral. La planta crece principalmente en Madagascar, Isla Comoro, Guatemala, Honduras, Brasil, Haití, Puerto Rico y México (8,14).

Se conocen otras variedades de Té Limón, entre las cuales tenemos:

- a) "Pasto rojo", localmente conocida como "Chomana poolu", contiene 75% o más de aldehídos (citral), exhibiendo gran solubilidad.
- b) "Pasto rojo", localmente conocido como "Wella poolu" o *Cymbopogon flexuosus* Staft var. *albescens*, con bajo contenido de aldehídos y pobre solubilidad.

El Té Limón es una gramínea, aromática, perenne, con rizomas cortas; inflorescencias grandes, colgantes, compuestos en racimos pareados sostenidos por brácteas foliáceas, alcanza una altura de 2 metros, con nudos cerfeos y hojas aromáticas. La parte empleada es la hoja.

El Té Limón recibe nombres vulgares como: caña santa, cañita de limón, yerba de la calentura, yerba limón, limoncillo, matojo de limón, limonera, matojillo, entre otros (en México y en el Caribe), aunque el nombre con el que se le conoce generalmente en el mundo es "Lemongrass". (14).

El Té se cultiva a pequeña escala, puesto que en su mayoría es silvestre.

#### A. i) Condiciones climáticas.

El Té Limón requiere de clima tropical y subtropical, con abundante brillo del sol, intermitente, pero no excesivo, crece a una altitud de 400 a 20000 ft. (135 - 670 metros al nivel del mar).

Su desarrollo se lleva a cabo sin ningún cuidado en especial, sólo se debe de contar con las características ya mencionadas.

Cuando la planta es joven, es pobre en rendimiento del aceite, como en solubilidad. Conforme se desarrolla, aumenta el contenido de aldehídos y la solubilidad, hasta llegar a la madurez, en donde estará en condiciones óptimas para su uso.

Los factores que ejercerán influencia sobre el desarrollo del material será la especie a la cual pertenecen, factores agrícolas, como es el medio ambiente, condiciones de sol, tiempo de cosecha, humedad,

los cuales nos darán el grado de desarrollo por el que vaya pasando la planta. (6).

#### A.ii) Recolección.

El tiempo de corte es muy importante, ya que ejerce una gran influencia sobre el rendimiento y calidad del aceite.

Crece durante todo el año, cuando es joven y delicada, el té no debe ser cortado, porque el rendimiento es anormalmente bajo en aldehídos (60 a 70%) y pobre en solubilidad, además que en estos meses es cuando puede existir té joven, también se presentan las inflorescencias, y el tallo se encoge, esto ocurre por los meses de marzo y abril, - más tarde el contenido aumenta a un 75% o más, cuando la época -- de lluvias cesa y la época de calor y seca llegan, por el mes de - agosto se recomienda hacer el corte del té, es cuando su contenido - de aldehídos es el más alto (6,14).

#### A.iii) Secado.

El secado del té no debe ser brusco a los rayos del sol, ni por tiempo prolongado, ya que puede ocurrir una pérdida importante del aceite esencial. El té después del corte, se deja "curar" (secar) hasta lograr obtener una humedad aproximada de 10 a 20%, el tiempo requerido para este proceso dependerá de las condiciones de secado.

La planta secada a la sombra, va a tener pérdidas de aceite, aunque en menor proporción que la planta secada directamente bajo los rayos del sol (14).

No importa cual sea el tipo de secado, siempre existirá el riesgo - de pequeñas pérdidas del aceite esencial debido a la volatilidad -

de sus componentes, en algunos esta pérdida será mayor si no es llevada correctamente el acondicionamiento del secado.

#### A. iv) Almacenamiento.

El material seco deberá ser almacenado en un lugar apropiado, manteniéndolo a temperatura constante y colocado en recipientes o envases herméticos para evitar que el medio ambiente influya en la humedad propia del material, y con ello se puedan provocar alteraciones, tanto en los constituyentes, como contaminaciones que afecten el rendimiento y calidad del aceite presente (6,14).

### 3. COMPOSICION QUIMICA DE LAS PLANTAS.

Cuando el organismo de la planta está vivo y en proceso de desarrollo, sus sustancias externas son constantemente absorbidas y transformadas en piedras de construcción. Algunos de estos productos, como es la celulosa, podrá ser depositada en las paredes de las células con lo que, la planta en relación adquiere una estructura más rígida. Otra sustancia es el almidón, que es almacenado como fuente de energía y origina materia orgánica, estos compuestos particularmente se pueden asignar a cierta función en la planta; pero se encontrarán mayores dificultades con un número de otras sustancias como los alcaloides, antocianinas, flavonas, resinas, goma de látex y aceites volátiles (como aceites esenciales).

La mayoría de las plantas que poseen aceites esenciales, también pueden contener alcoholes, aldehídos, ésteres, acetonas, lactonas, y fenoles.

El otro importante componente, que además es vital a la planta es el agua (11).

Se encuentran los aceites esenciales en regiones circunscritas de la planta, segregadas por células normales ligeramente modificadas o estructuras especializadas, como los tricomas glandulares, los conductos secretores - especiales y las cavidades lefígenas o esquizógenas.

Unas 2,000 especies producirán aceites esenciales (14).

#### 4. IMPORTACIONES - EXPORTACIONES

Nuestro país es un gran importador de aceites esenciales entre los cuales destacan los de menta, hierbabuena, anís, canela, mandarina, toronja, naranja y Té Limón. Así, de los principales productos químicos que se manejan en el Comercio Exterior de México, la importación de aceites esenciales ocupa el vigésimo lugar entre los productos que generan la salida de divisas. Cuadro I. (39).

#### 5. USOS

El uso de la planta de Té Limón, viene desde la antigüedad, la gente lo ha preparado tradicionalmente como una agradable infusión, debido a su aroma y sabor que recuerdan al limón.

Se usa la planta principalmente como fuente en la obtención del aceite esencial, empleado generalmente como saborizante en diversos productos alimenticios, en detergentes, fragancias (síntesis de iononas) y, en medicamentos (pectorales, analgésicos y carminativos, entre otros) (16, - 32).



CUADRO I. CIFRAS GLOBALES DE IMPORTACIONES-EXPORTACIONES

AÑO	PAIS	%	IMPORTACIONES (KG)	EXPORTACIONES (KG)
1977	BRASIL	0.8	44,687	
	GUATEMALA	47.09		
	GRAN BRETAÑA	0.76		
	E. E. U. U.	51.0		
1978	ARGENTINA	36.36	13,859	
	BRASIL	5.59		
	E. E. U. U.	58.47		
1979	ESPAÑA	0.036	54,632	
	E. E. U. U.	22.68		
	GUATEMALA	75.61		
	SUDAN	1.66		
1980	E. E. U. U.	38.33	35,771	
	FRANCIA	12.46		
	GUATEMALA	49.19		
1981	BRASIL	1.43	50,246	
	E. E. U. U.	14.45		
	FRANCIA	0.10		
	GUATEMALA	83.41		
	SUIZA	0.59		
1982	E. E. U. U.	5.58	12,532	
	FRANCIA	0.32		
	GUATEMALA	94.0		
1983	E. E. U. U.	100.0	4,045	
1984	E. E. U. U.	25.38	29,492	
	FRANCIA	0.67		
	GUATEMALA	73.83		
	SUIZA	0.2		
1986	E. E. U. U.	66.52	43,013	
	FRANCIA	0.0006		
	GUATEMALA	33.35		
	SUIZA	0.11		
1978	MEXICO A BRASIL			5,938
1980	MEXICO A BRASIL			1,281
1981	MEXICO A BRASIL			3,691
1982	MEXICO A ARGENTINA Y BRASIL			10,629
1983	MEXICO A ACUADOR			56
1986	MEXICO A E. E. U. U.			144

(4) Banco Nacional de Comercio Exterior. Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos (1977 a 1986). Instituto Nacional de Estadísticas, Geografía e Informática.

## 6. ACEITE ESENCIAL DE TÉ LIMÓN (C. CITRATUS)

El aceite esencial de Té Limón, conocido como "Lemongrass" en el mundo, está constituido por una gran variedad de compuestos químicos, siendo el de mayor importancia el Citral ( $C_{10}H_{16}O$ ), que se encuentra en un porcentaje de un 50 a 85% del total del aceite. El citral es un aldehído monoterpéno, que está formado por dos isómeros, el A o también llamado geranial (2-trans-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol) y el B o neral (2-cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol). Lo sigue en importancia el linalol (2,6-dimetil-2,7-octadien-6-ol ó 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol) que es un terpeno alifático, es además oxigenado (13,11).

Los siguientes terpenos de menor importancia, pueden estar presentes en pequeñas cantidades:

### - Monoterpenos

Mircene (7-metil-3-metilen-1,6-octadieno) que es un terpeno acíclico.

d-limoneno (1-metil-4-isopropil-1-ciclohexeno) que es un terpeno monocíclico.

### - Terpenos oxigenados.

Citronelal (3,7-dimetil-6-octenal).

Nerol (cis-2,6-dimetil-2,6-octadien-8-ol ó cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol).

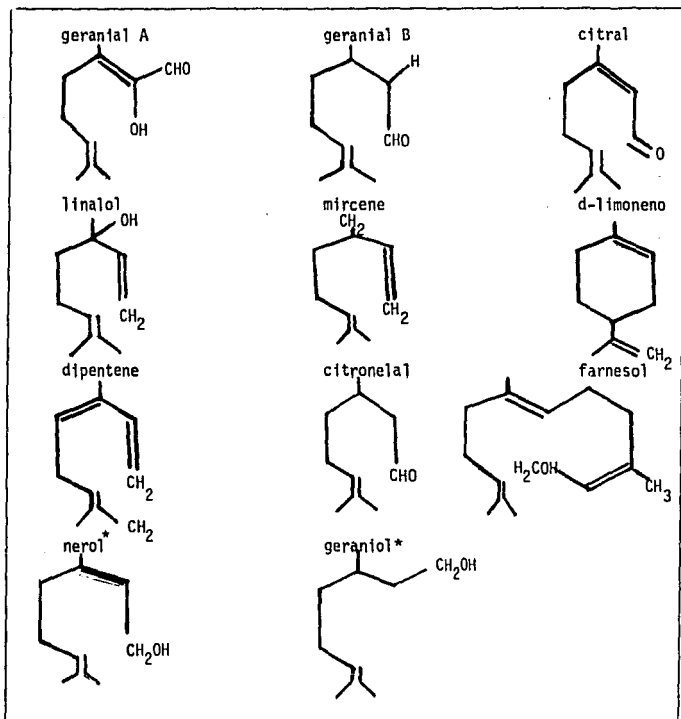
### - Alcoholes sesquiterpenos.

Farnesol (3,7,11-trimetil-2,6-10-dodecatrien-1-ol), es alifático.

Y se tienen otros como: metil heptanona, metil heptanol, n-decaldehído, aldehído isovalérico, furfural,

En la Figura 4 se muestran las fórmulas desarrolladas de los principales componentes en el aceite esencial de Té Limón.

FIGURA 4. FORMULAS DESARROLLADAS DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL TE - LIMÓN.



(14) Guenther Ernest. The essential oils. Vol. I. 1952.  
(38) Young W. Heber. Tratado de Farmacognosia. 1951.

El Citral\* se puede convertir en geraniol y nerol, con sólo la adición de 2 átomos de hidrógeno, cambiando además su aroma de limón a rosa.

Las características físicas que presenta el aceite esencial son:

- a) Color amarillo, que va del tono amarillo paja claro al ligeramente obscuro.
- b) Sabor, que da una sensación de frescura que recuerda al limón y a la verbena.

Las características fisicoquímicas se presentan en el Cuadro 2.

CUADRO 2. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE TE LIMÓN.

GRAVEDAD ESPECÍFICA 20° / 20°C	0.8720 - 0.8790
ÍNDICE DE REFRACCIÓN A 20°C	1.4820 - 1.4877
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL) MET. BISULFITO	50.00 - 85.00%
SOLUBILIDAD EN ALCOHOL*	+ 80% EN ALCOHOL
ROTACIÓN ÓPTICA	- 3° a + 1°

(14) Guenther Ernest. The Essential Oils. Vol. I. 1952.

(7)\* Furia e. Thomas. Feranoli's Handbook of Flavor Ingredients.

La parte empleada para la extracción del aceite esencial, es la herbácea (hojas) ya que en el tallo aunque contiene aceite, se encuentra en cantidades muy pequeñas, por lo cual no es conveniente la extracción de esta porción de la planta.

El aceite está regulado dentro de la lista GRASS (15) y en la FEMA con el número 2624 (10) y es clasificado como un saborizante natural, proveniente

de hierba o especie,

Tiene un gran uso en la industria de la confitería y de refrescos, como en la producción de iononas, de la cual se obtienen sintéticamente el perfume de violeta, jabones, detergentes, fragancias, limpiadores bucales, diuréticos, etc.

Se ha observado que el citral contenido en el Té Limón ayuda a la epitelización de la enfermedad de la córnea, con pronunciados efectos analgésicos cuando es administrado en pequeñas dosis. Se usa contra el catarro, fiebres, para bajar la presión arterial, es estomacal y espectral (11, - 19).

La investigación toxicológica sobre el aceite, ha demostrado que no existen efectos nocivos para el consumo humano. Sólo en animales de laboratorio, se ha encontrado que el citral, administrado en forma oral o subcutánea a monos y conejos produce lesiones del epitelio vascular. Una sola dosis oral de 5'g/Kg. produce en el conejo alteraciones epiteliales (20).

La administración de Vitamina A impide este efecto, algunos alimentos que contienen esta vitamina, son las mermeladas y algunas bebidas cítricas.

#### 7. METODOS DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES (14,15).

La mayor parte de los aceites esenciales se obtiene por la destilación con vapor, agua y otros solventes. La destilación es definida como "La separación de los componentes de una mezcla de dos o más líquidos en virtud de la diferencia de presión de vapor".

Es un método adecuado para el aislamiento de sustancias aromáticas del

materia] problema, pero se deben tener precauciones con la temperatura y otros cambios químicos.

Se tienen dos teorías que toman en cuenta las características de las sustan--  
tancias:

- a) En donde se tiene una mezcla de sustancias, las cuales no son miscibles, formando entonces dos fases, esto se da cuando hacemos el destilado del aceite esencial con vapor o agua, en donde al condensarse se puede ob--servar las dos fases (agua-aceite).
- b) En donde se tiene una mezcla de sustancias que son completamente miscibles, formándose solamente una fase, que se presenta en el caso de la -fraccionación del aceite, en donde sólo tenemos una fase y que se van a separar por diferencia del punto de ebullición de cada componente.

Para llevar a cabo la destilación, uno de los factores de mayor importancia es la columna, ya que dependiendo de la eficiencia que presenta será el -éxito de la destilación. Otro factor que es importante para esta destilación, y por ello el rendimiento sea óptimo, es el tratamiento y manejo de la planta aromática, puesto que los aceites esenciales se encuentran encerrados dentro de las "glándulas" o "venas" o "pelos glandulares" de éstas plantas, además de como se haya realizado la fraccionación, ya que al ser fraccionado o partido en trozos muy pequeños, se romperán estas "glándu--las" más de lo debido, lo que provocará que antes y durante el destilado, los componentes volátiles se evaporen, y por ello perderse, teniendo dos efectos que resultan adversos.

- El rendimiento total del aceite puede disminuir.
- La composición del aceite cambia, afectando su aroma y sabor.

El destilado de materiales volátiles que han seguido una buena fraccionación y almacenamiento de la planta, están listos para ser utilizados. Existen tres métodos generales de destilación que son empleados ampliamente:

a) Destilación con agua.

En este método, el material empleado está en contacto directo con el agua en ebullición, puede estar el material flotando o estar inmerso completamente, dependiendo de la gravedad específica del material.

Las plantas que se someten a este tipo de destilación, es porque si se destilan con vapor directo provoca que se aglomeren formando "piedras", en donde al vapor le resulta difícil penetrar al interior, bajando con esto el rendimiento de la destilación, pero no es conveniente para especies que contienen almidón. La Figura 5 muestra el diagrama de flujo de la destilación con agua.

b) Destilación con agua y vapor.

Es un método bastante común, en donde el material está apoyado en el fondo (con agua, la cual está en ebullición) en la destiladora. El agua pasa a través de una chaqueta de vapor, y este vapor producido es saturado húmedo y a baja presión. El fondo de la destiladora se llena con agua a un nivel bajo. Además, el vapor no debe ser sobrecalentado.

El material sólo deberá estar en contacto con el vapor y no con el agua. La Figura 6 muestra el diagrama de flujo de la destilación agua-vapor.

c) Destilación con vapor directo.

En este método el material está apoyado en la base. El vapor vivo es inyectado en el fondo de la destiladora, se pueden utilizar vapor

sobrecalentado con alta presión atmosférica. La Figura 7 muestra el diagrama de flujo de destilación con vapor.

Los efectos que se pueden presentar en una hidrodestilación son:

- Difusión de aceites esenciales y agua caliente a través de las membranas de la planta. La destilación del material está relacionado con un proceso de difusión y principalmente de ósmosis.
- Hidrólisis de ciertos componentes de los aceites esenciales, definida como una "reacción química entre el agua y ciertos constituyentes de dichos aceites.
- Descomposición ocasionada por el calentamiento, todos los constituyentes de los aceites son inestables a alta temperatura por lo que se debe tener en cuenta la temperatura a la que se trabaja en la destiladora. Por estos efectos la hidrodestilación no es un método muy recomendado para la extracción de los aceites.

El equipo básico para los tres tipos de destilación son:

- La retorta, propiamente la destiladora o alambique.
- Recolector.
- Fuente de calor para generar vapor o calentador con agua.

El equipo puede ser portátil o de mayor tamaño, esto será de acuerdo a la cantidad de material con el que se trabaja, además del lugar. Para instalaciones pequeñas o portátiles, ofrece una ventaja la simplicidad del equipo.

Los métodos generales ya mencionados, pueden ser modificados por cambios de presión interna de la destiladora, así se tiene que la destilación puede ser llevada a cabo por:



- Presión reducida.
- Presión atmosférica.
- Presión alta.

Dependiendo del producto a destilar, se busca la presión adecuada para la obtención de resultados óptimos. Para poder determinar el final de la destilación, se toma en cuenta la opinión de la persona encargada de ésta, - considerar el rendimiento del aceite, observando la cantidad obtenida en - cada determinado tiempo, para así medir la cantidad total de aceite, y cuando no se logre observar un aumento en el nivel del aceite, entonces se ha llegado al final de la destilación.

La utilización de la destilación por las industrias saborizantes, se hace con el fin de:

- Recuperar componentes volátiles de materiales de plantas.
- Fraccionación o rectificación de aceites esenciales.
- Purificación de químicos aromáticos volátiles.
- Recuperación de solventes durante el proceso de extracción.
- Concentración de materiales saborizantes naturales (concentrado de frutas.
- En destilación destructiva, para la producción de ácidos piroligénicos.
- En numerosas técnicas de búsqueda y analíticas.

Fig.5 Diagrama de Flujo de Destilación con agua.

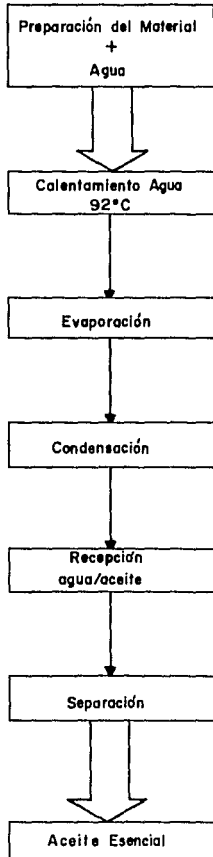


Fig.6 Diagrama de Flujo de la Destilación con Agua/Vapor.

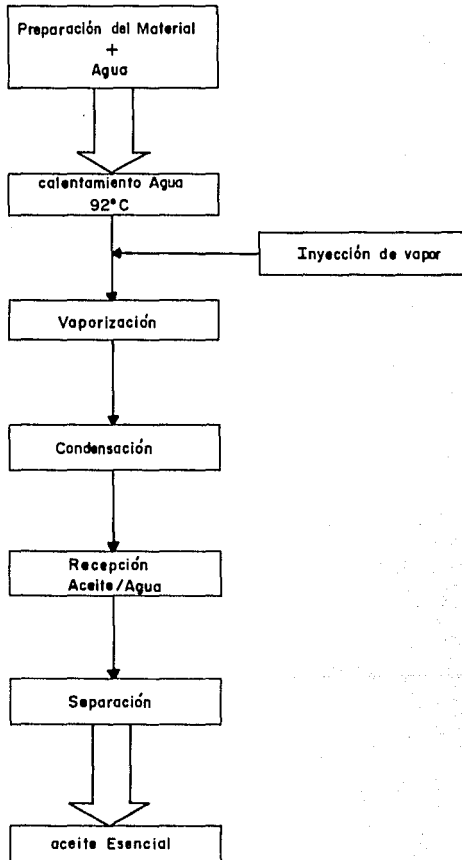
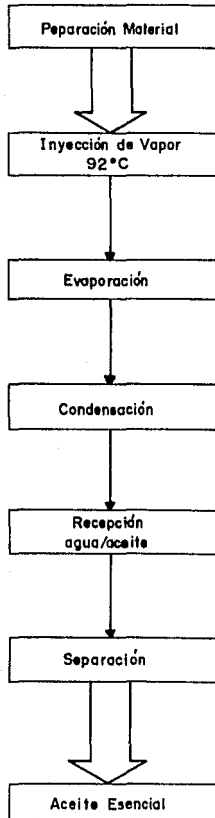


Fig. 7 Diagrama de Flujo de la Destilación con Vapor



## B. PRODUCCION DE ACEITES ESENCIALES (14,15).

La producción de aceites esenciales se basa en los métodos de destilación, en donde se deben de llevar a cabo los siguientes pasos:

### A) Preparación para realizar una destilación:

- . Secado, durante este proceso, en las membranas de las células, los líquidos gradualmente quedan libres para penetrar de célula en célula, obteniéndose una alta formación de nuevos componentes volátiles.
- . Tratamiento del material, sometido a una fraccionación, en algunos materiales no se recomienda, ya que puede ocasionar fuerte pérdida de aceite esencial.
- . Almacenamiento del material en condiciones óptimas previo a la destilación.

Durante la destilación, el vapor penetra en el material celular y vaporiza todas las sustancias volátiles llevándose las en el proceso; ya sea con la destilación con agua, agua-vapor o vapor.

El tratamiento del aceite volátil, implica un manejo adecuado del aceite condensado ya que puede deteriorarse, principalmente si se almacena por un período largo.

### B) Destilación prueba:

La destilación prueba se lleva a cabo a nivel laboratorio, a pequeña escala y bajo condiciones controladas, considerándose los resultados como un estándar, el cual cuando se lleva a cabo a gran escala, deberá acercarse lo más posible al realizado experimentalmente en el laboratorio. Se tienen básicamente dos tipos de prueba:

- En muy pequeña escala, en frasco o matraz de vidrio.
- En gran escala, en una destiladora piloto.

### C) Destilación

En donde el total del material será llevado a cabo con el tipo de destilación más adecuada, para obtener el máximo rendimiento y calidad.

La hidrodestilación del material a presión alta y reducida, y con vapor sobrecalentado, así como el uso de vapor a alta presión para la rectificación de aceites volátiles no es conveniente, ya que puede ocasionar una débil o fuerte descomposición.

La destilación con agua del material, a alta presión, es clasificado en:

- a) Destilación con vapor con ligera presión reducida, frecuentemente a corto tiempo de destilado.
- b) Destilación con vapor al vacío (baja presión), siendo la principal ventaja que el aceite así obtenido, estará libre de olor causado por la descomposición, el cual acompaña a aceites destilados alrededor de los 70°C.
- c) Destilación con vapor sobrecalentado, si se mezcla a alta presión y vapor saturado, esto evitará el "quemado" y descomposición del material.

El destilado contiene generalmente más agua si el aceite aislado es hidrodestilado. La falta de aceite en la hidrodestilación del material es causado por varios factores:

Durante la destilación, el contenido de aceite en el material decrece gradualmente hacia el final de la destilación.

El tiempo de retención del material puede ser debido a las fuerzas de cohesión.

El aceite está dentro de las glándulas y en contacto directo con el vapor por varias capas de la membrana y si además está finamente fraccionado en forma de "polvo" no penetrará fácilmente el vapor.

Si el material está fraccionado y tiene muy alto punto de ebullición o contiene además sustancias no volátiles (resinas, parafinas, aceites grasos) en otras células o glándulas, mezcladas y disueltas en el aceite volátil.

El consumo de vapor se ve influenciado principalmente por el contenido de humedad del material, particularmente en el caso de hierba, pastos y raíces, teniéndose un rango de humedad de 10 a 20%.

La proporción de la destilación, en donde la cantidad de agua destilada dentro por hora, se puede nombrar como proporción destilación (fuerza de polveado).

La presión de vapor que se genere por las diferencias de presión de vapor de los componentes presentes.

Los aceites esenciales de compuestos volátiles, son más o menos sensibles al calor.

La mayoría de los aceites esenciales después de destilados, están contaminados con productos volátiles surgidos durante la descomposición de las sustancias complejas, provocada por el vapor o agua caliente. Por esto se debe llevar a cabo una redestilación para eliminar sustancias no deseadas. Estos métodos de separación o purificación es llamado "fraccionación" o "rectificación".

## 9. METODO DE DESTERPENACION DE ACEITES ESENCIALES (14,15)

La desterpenación tiene como principal objetivo la separación de compuestos volátiles y no volátiles, si el aceite está coloreado intensamente y no es deseado, se eliminan los compuestos indeseables que son conocidos como terpenos, los cuales son trasladados fuera de los aceites; el proceso también tiene un efecto de concentración de la fuerza del saborizante del aceite y se recuperan los compuestos oxigenados deseados en solución. Este proceso se basa en la separación de líquidos miscibles teniendo diferentes puntos de ebullición, se obtiene al final la purificación del producto.

En ocasiones, dos o más compuestos orgánicos pueden formar un azeótropo de mezcla de ebullición constante en el cual la composición del vapor en contacto con la mezcla de líquidos remanentes no variará. (14).

Si no se lleva la fraccionación correctamente, los componentes indeseables quedarán dentro del aceite esencial, esto provocará reacciones negativas sobre el producto terminado, que influirán sobre la calidad, causando un rechazo hacia el producto.

Los problemas que principalmente se presentan son: producción de aromas y colores indeseables, debido a que existen los terpenos que van a oxidarse por vías radicales libres, lo que provoca que se lleguen a formar compuestos tóxicos para el consumo humano, como pueden ser la cumarina, cafeína y safrol, entre otros. (6).

El aceite de rectificado estará libre de olores desagradables que pueden provenir de terpenos que se oxidan fácilmente y que son eliminados por este proceso.

La columna de rectificación es la parte más importante junto con la bomba de vacfo. Posee un empaque, frecuentemente con platos, cadenas o cuentas



de vidrio poroso, las cuales van a facilitar la separación de los componentes.

La fraccionación es llevada a presión reducida y en seco (únicamente el aceite). La presión empleada podría no ser tan alta (5 a 10 mm Hg), a menor presión ebullición a menor temperatura los componentes, por esto será necesario un vacío eficiente en la fraccionación, equipo completamente hermético, un efectivo condensador y una trampa de vacío especial para evitar que los componentes volátiles se pierdan en la bomba de vacío.

Un aceite nunca se destierpena a presión atmosférica, ya que provoca resinificación y cambios fisicoquímicos de los aceites, afectando sabor, aroma y color (15).

Se prohíbe hacer la rectificación o fraccionación de los aceites esenciales con vapor directo a presión atmosférica. La misma destiladora puede ser usada para la destierpenación del aceite.

#### 10. LAVADO DE ACEITES ESENCIALES (13,15).

El proceso de lavado de aceites esenciales se lleva a cabo en ciertas condiciones. Un ejemplo de ello es en la elaboración de bebidas gaseosas no alcohólicas, en donde, si se usa tal cual el aceite como saborizante, el producto final, no tendrá las características necesarias para su consumo. Un problema clásico es que el producto se llega a enturbiar, siendo que de otra manera sería claro y cristalino (39).

Por otro lado, el lavado ayudará a que el aceite aumente su solubilidad en agua.

El aceite es extraído por soluciones de alcohol diluido u otro solvente. Los terpenos, la fracción hidrocarbonada no se mezcla con alcohol diluido, y así puede ser separado.

Seleccionada la concentración adecuada, considerando el coeficiente de partición de la sustancia saborizante entre la extracción con solvente y el hidrocarbonado, se procederá a hacer el lavado. Se aconseja dejar la mezcla de lavado en un lugar fresco y oscuro varios días, para un mejor resultado. El porcentaje de dilución del alcohol que se aconseja usar es del 60% (15), ya que si se usa el alcohol concentrado, entonces grandes cantidades de terpenos deberán disolverse en el alcohol más tarde, lo que provocará pérdidas de aceite en el lavado.

#### 11. ALMACENAMIENTO DE ACEITES ESENCIALES (15).

El almacenamiento de aceites esenciales, requiere de buen control, esto es debido a su composición, en su mayoría, a base de terpenos.

Estos son los principales puntos de vista que se deben de considerar:

- a) Almacenamiento a una temperatura fresca.
- b) Guardar lejos de la humedad.
- c) Evitar calor directo y luz solar.
- d) Guardar en envases cerrados, ajustadamente y después de usarse volver a cerrar inmediatamente.
- e) Almacenar productos a base de frutas y aceites de cítricos en un cuarto frío (con una temperatura de 2°C [35°] ).
- f) No abrir envases si no es necesario.

- g) El contenido debe ser precisado con todos los datos completos, para ser turnados con otros de anaquel de vida normal.

## 12. CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL (13,15).

La calidad es definida como "el grado de excelencia". Es difícil llevarse a cabo por su complejidad para obtener información que nos indique la calidad presente.

Los términos fielmente usados de "control de calidad" y "medición de la calidad", no son precisamente entendidos por estar directamente involucrados en esta aplicación. El control de calidad es la manufacturación, aprovechada para mantener la calidad de los productos elaborados basándose en tratar de definir especificaciones.

La necesidad para definir claramente las técnicas de control y a menudo elaborar esquemas para salvaguardar necesariamente y asegurar la calidad, la relativa responsabilidad producida, particularmente para considerar el aroma y sabor, que han sido siempre aceptados y sujetas a severas y excelentes pruebas.

La producción de métodos a gran escala, ahora aplicada a muy diversos productos los cuales son consumidos como parte suplementaria de una dieta, involucra un control muy cerrado y crítico de todas las materias primas usadas, condiciones de proceso, manejo, empaclado y claro del producto terminado, además de su consumo.

Una forma de llevar un control sobre la calidad del producto, es la evaluación sensorial, en donde se involucran todos los órganos de los sentidos. Y es la compleja sensación que resulta de la interacción de los sentidos, y que son usados para medir la calidad de los alimentos en los programas de

control de calidad y de los nuevos productos desarrollados,

Esta evaluación puede ser llevada por una persona o por varios cientos. -

La evaluación sensorial es aplicada para:

- a) Nuevos productos desarrollados.
- b) Reducción de costos.
- c) Calidad mejorada
- d) Evaluación de aceptación del producto.
- e) Control de calidad.

En una evaluación sensorial, se quieren controlar los siguientes factores:

- Establecer y caracterizar cambios, los cuales pueden ser naturales o no.
- Todo tipo de diferencias entre muestras.
- Evaluación de la calidad que pueden ser expresados en términos de una simple escala numérica o índice.
- Estándares establecidos y especificaciones.
- Grados de muestras con o sin referencia, una muestra estándar.
- Establecimiento de relación entre pruebas objetivas y subjetivas de datos.
- Establecimiento de valores hedónicos del producto.

Las respuestas obtenidas caben ampliamente en dos categorías:

- Analíticas, aplicadas a establecer las diferencias.
- La hedónica, aplicada a decisiones de preferencia y aceptabilidad.

Para poder llevar a cabo estas pruebas de evaluación, se definen primeramente, todas las características sensoriales que intervienen, para posteriormente aplicar la prueba de evaluación necesaria.

El olor que describe la sensación percibida v/a del órgano olfatorio, olien do u olfateando sustancias volátiles. Esto es también aplicado a la calidad de esta particular sensación debido a estas sustancias. El aroma, que frecuentemente es usada para describir un olor percibido por el órgano olfatorio durante el consumo del producto. Esta palabra también es usada para describir un olor con una nota agradable. El gusto, que describe la sensación percibida v/a del gusto, teniéndose cuatro sensaciones percibidas y son: salado, ácido, amargo y dulce.

El sabor, una compleja sensación que describe la total percepción derivada del gusto y olor, influenciada por sensaciones de dolor, calor, frío o - bien de sensaciones táctiles.

La metodología para llevar a cabo una evaluación sensorial, se puede basar en dos métodos (18).

- Pruebas de diferencia.
- Triangular, donde tres muestras codificadas son presentadas a los panelistas, deben indicar cuáles son las muestras idénticas y cuál es la diferente.
- Duo-Trfo, tres muestras son presentadas a los panelistas, una es etiquetada R(referencia) y las otras dos codificadas. Una muestra codificada es idéntica con R y la otra es diferente, los panelistas identifican la muestra impar.
- Comparación pareada, un par de muestras codificadas que representan el estándar o control y un tratamiento experimental que son presentados

- a los panelistas, los cuales indicarán cuál es la materia que tiene - grandes o menos grados de intensidad de una característica específica.
- Rango, a los panelistas se les preguntan varios rangos de muestras codificadas, acordado para la intensidad de alguna característica particular.
  - Comparación múltiple, se conoce una muestra de referencia o muestra estándar, es etiquetada R y presentada al panelista con varias codificadas. Al panelista se le pregunta la calificación de las muestras codificadas en comparación con la muestra referencial.
  - Calificación, las muestras codificadas son evaluadas por los panelistas, quienes registran estas reacciones a una escala gradual descriptiva. Estas calificaciones son obtenidas con valores numéricos por la persona que analiza los resultados.
  - Método de Perfil-Sabor, este procedimiento fue desarrollado por Arthur D. Little. En un pequeño pánel de 6 a 9 gentes, quienes han sido entrenadas en la medición del perfil del sabor de productos alimenticios. Las palabras descriptivas y números, con idénticos significados para cada nota a una escala propia. Con este método es posible determinar pequeños grados de diferencia entre las dos muestras, el grado de mezclado, grado de similitud y de todas las impresiones del producto. Considerables conocimientos se requieren del sabor para la interpretación de los resultados obtenidos y que puedan ser analizados estadísticamente.
  - Pruebas de dilución, involucra la determinación de la identificación de entrada para el material bajo estudio. El sabor del producto es descrito en términos del porcentaje de dilución como proporción que refleja la suma actual de olor y sabor detectado. Este método requiere de estándares adecuados para comparación de la dilución de la - -

prueba material y es limitada a alimentos que pueden ser hechos homogéneamente.

. Prueba de Preferencia.

- Comparación pareada, es usada de preferencia, probando si es similar a la usada para ver diferencia. Cuando se prueban diferencias, al panelista se le pregunta cuál muestra prefiere y cuál es el grado de preferencia.
- Calificación, existen diferentes tipos de escalas que han sido desarrolladas para ensayar, determinar el grado de gusto o disgusto para un alimento. Estas escalas pueden ser "excelente", "muy bien", "bien", "malo", o en maneras similares. Sin embargo, la escala de preferencia que ha recibido probablemente la mayor atención en los últimos 10 años, es la hedónica. Mucho tiempo y esfuerzo ha sido consumido para determinar cuáles son las mejores palabras que a la persona le gustará o no. La escala hedónica es el resultado de estas investigaciones.
- Rango- Muestra, es el mismo procedimiento como diferentes pruebas, excepto las que se usan cuando es una prueba de preferencia, en el cuestionario son palabras que los panelistas puedan indicar el orden de preferencia de las muestras.

Para poder llevar a cabo estas pruebas, el tamaño de los paneles pueden variar grandemente, ya que frecuentemente están limitados, por los recursos que poseen las compañías. En el cuadro 3 se muestran los tipos de pruebas de evaluación sensorial.

El panelista experto, es requerido con cierta experiencia adquirida como resultado de muchos años de entrenamiento.

Los no expertos, en donde para la evaluación de ciertos productos, no -

se requiere de la experiencia. El número puede variar de 1 a 30, o más - personas, dependiendo del tipo de prueba que sea aplicado.

CUADRO 3. TIPOS DE PRUEBAS DE EVALUACION SENSORIAL.

PRUEBA	TIPO DE PRUEBA	TIPO DE PANEL Y NO. DE PANELISTAS.	NO. DE MUESTRAS POR PRUEBA	ANALISIS DE DATOS
1	MUESTRA SENCILLA	SIN ENTRENAMIENTO: +80 ENTRENADO:3-10.	1 MUESTRA POR SESION	ANALISIS DE VARIANZA
2	COMPARACION PARALELA	SIN ENTRENAMIENTO: + 80 ENTRENADOS:3-10	2 MUESTRAS	DISTRIBUCION BINOMIAL.
3	DUO-TRIO.	ENTRENADOS:3-10	3 MUESTRAS 2 IDENTICAS 1 DIFERENTE	DISTRIBUCION BINOMIAL
4	TRIANGULO (TRIADA)	ENTRENADOS:3-10.	3 MUESTRAS 2 IDENTICAS 1 DIFERENTE	DISTRIBUCION BINOMIAL
5	ORDEN DE RANGO	ENTRENADOS:3-10 SEMIENTRENADOS: 9025 SIN ENTRENAMIENTO: +80.	2 a 7	ANALISIS DE RANGO O ANALISIS DE VARIANZA.
6	DIFERENCIA ESCALAR DEL CONTROL.	ENTRENADO: 3-10 SEMIENTRENADOS: 8-25.	1 A 18 EXPERIMENTOS - (# MAYOR SOLAMENTE SI ES DE SABOR SUAVE O SE JUZGA SOLAMENTE TEXTURA).	ANALISIS DE VARIANZA O ANALISIS DE RANGO.
7	PUNTAJE ESCALAR	ENTRENADO:3-10	1-18 (EL # MAYOR SOLAMENTE SI ES DE SABOR SUAVE O SI SE JUZGA SOLAMENTE PARA TEXTURA).	ANALISIS DE VARIANZA O ANALISIS DE RANGO.
8	HEDONICO ESCALAR	SEMIENTRENADOS: 8-25	1-18 (E) # MAYOR SOLAMENTE SI ES DE SABOR SUAVE O SI SE JUZGA SOLAMENTE PARA TEXTURA.	ANALISIS DE VARIANZA O ANALISIS DE RANGO.
9	PERFIL	ALTAMENTE ENTRENADOS:3-8	1-5	PRESENTACION GRAFICAS.
10	SENSITIVIDAD (UMBRAL)	SIN ENTRENAMIENTO, COMO SE REQUIERA.	5-15	ANALISIS SECUENCIAL

(12) GATCHALIAN MIROZA, MIFLORA. SENSORY EVALUATION METHODS WITH STATISTICAL ANALYSIS.

(18) LARMOND ELIZABETH. METHODS FOR SENSORY EVALUATION OF FOOD.

(3) AMERINE HAYNORD, A., RESSLER B., EDWARD. PRINCIPLES OF SENSORY EVALUATION OF FOOD.



## CAPÍTULO IV

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### 1. CLASIFICACION BOTANICA.

Se llevó a cabo la clasificación botánica del Té Limón, gracias a la ayuda del Dr. Robert Birg, en el Instituto de Biología, UNAM, esto se hizo - con el fin de conocer con exactitud, con que variedad se trabajó. Además se realizaron todos los análisis pertinentes con objeto de tener un marco de referencia para su comparación al final con el aceite esencial.

#### 2. PREPARACION DE LA MATERIA PRIMA.

Para el empleo de la materia prima, se debe llevar a cabo un acondiciona miento previo para realizar el trabajo adecuadamente.

La hoja es separada del tallo, no se recomienda fraccionarla en porciones pequeñas ya que pueden ocurrir pérdidas significativas de compuestos aromáticos.

Se extienden las hojas del té limón, separándose manualmente sobre papel en una charola; el tallo se elimina. Se mete a una incubadora a 25°C (temperatura controlada), o en un lugar donde se mantengan estas condiciones. Periódicamente se remueve el material para lograr que el secado sea homogéneo.

Se deja secar hasta que se tenga una humedad aproximada entre 10 a 20%. Esto es controlado, mediante pérdida de peso que sufre durante el secado. El tiempo requerido para este secado, se puede determinar cuando el porcentaje de humedad no varía significativamente de un día a otro,

lo que se ve reflejado en que la pérdida de peso del material es mínima.

El material se coloca en bolsas de polietileno con cierre, las cuales son introducidas a la vez en frascos de vidrio sellados con una película de PVC, cerrándose herméticamente con la tapa del frasco, para evitar cambios en el contenido de humedad y con ello se tenga un error en el porcentaje de rendimiento.

### 3. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LA MATERIA PRIMA

La muestra es destilada en el aparato de Bidwell-Sterling (figura 8) con un líquido inmiscible en agua, tal como el tolueno. El aparato consta de un matraz redondo (a) el cual va conectado a una trampa especial (b) que colecta y mide el nivel de agua condensada, y el exceso de solvente es vertido y regresado al matraz redondo (a).

#### PROCEDIMIENTO:

Conectar el aparato. Introducir en el matraz 15 gramos aproximadamente - pesado muy bien, para producir de 2 a 4 ml. de agua, se adicionan aproximadamente 200 ml. de tolueno en el matraz a través de la punta del condensador y del mismo modo se llena la trampa receptora.

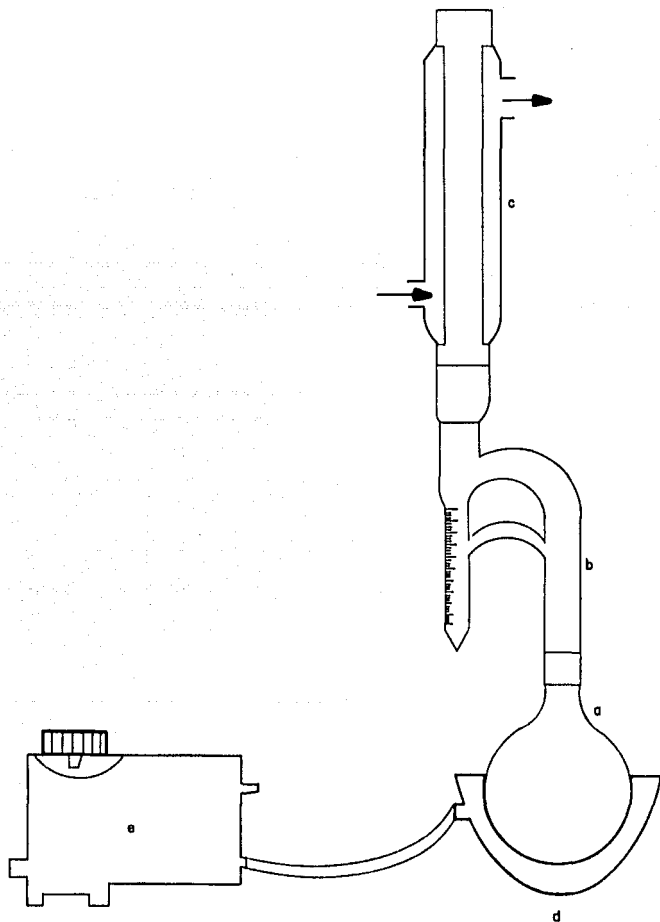
Se calienta suavemente el matraz por medio de una canastilla (d) con réstato (e) hasta que el tolueno empieza a ebulir (temperatura de ebullición del tolueno=111°C), aumentar el calentamiento y destilar.

Quando se observa que ya no hay mas incremento en el volumen de agua colectada, se continúa por 15 minutos adicionales, y se suspende la destilación. Se deja enfriar el aparato, cuando el agua y el tolueno han sido -

separados completamente, se lee directamente el volumen de agua colectada.

Se calcula el porcentaje de agua presente en la muestra. Esta determinación se hace por triplicado y se reporta el promedio de humedad de la muestra (1,24).

Fig.9 Aparato de Bidwell-Sterlig. Determinación de Humedad.



#### 4. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL DE LA MATERIA PRIMA.

Es generalmente reconocido y aceptado que el mejor método para la determinación de aceite esencial en medicamentos y especias, es el uso de un aparato de destilación continua, en el cual la materia prima es destilada por vapor y la cantidad de aceite obtenido es determinado volumétricamente al final de la destilación.

Existen tres métodos generales para determinar el contenido de aceite esencial y son los siguientes:

- a) Un procedimiento que es esencialmente una destilación por vapor empleado de 50 a 100 grs. de material. El destilado es corrido a través de un condensador directamente en aparato llamado Aetómetro el cual está provisto de un cuello en espiral en un tubo capilar graduado para leer en ml. la cantidad del aceite destilado.
- b) Un método que emplea un aparato que consiste en un matraz con tubo vertical conectado a un condensador recto. Este condensador a su vez está unido por el otro extremo a un tubo graduado. El extremo inferior de este tubo es doblado para formar un tubo de recirculación para el agua destilada hacia el matraz de destilación. Aproximadamente 300 ml. de agua es llevada al matraz con una cantidad pesada de material.
- c) Un tercer método, es llamado método de Clevenger, el cual tiene una exactitud del 90%. Es simple, fácil, rápido y produce aceite en cantidad suficiente. El aparato empleado consta de un matraz redondo, conectado a una trampa especial y esta a su vez a un condensador del tipo "dedo frío".

La destilación es por ebullición del agua. El inconveniente del método de Clevenger es que se requiere de dos trampas especiales, una para aceites más ligeros que el agua y otra para aceites más pesados que el agua y otra para aceites más pesados. Además involucra la posibilidad de productos presentes en medicamentos y especias (otros aparte del aceite volátil) - los cuales pudieran descomponerse durante el calentamiento a la temperatura del agua y causar resultados altos.

#### PROCEDIMIENTO:

Para la determinación del contenido de aceite esencial de la materia prima se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor.

El equipo (fig. 9) está formado por un matraz de 2 bocas con juntas esmeriladas 24/40 con capacidad de 500 ml. (a), una "t" de destilación con junta esmerilada 24/40 (b), un colector con junta esmerilada 24/40 (c), dos refrigerantes rectos con juntas esmeriladas 24/40 (d), una bureta con llave de vidrio de 50 ml. (e), 4 soportes universales, un tripie, un anillo metálico, y un mechero de bunsen (f).

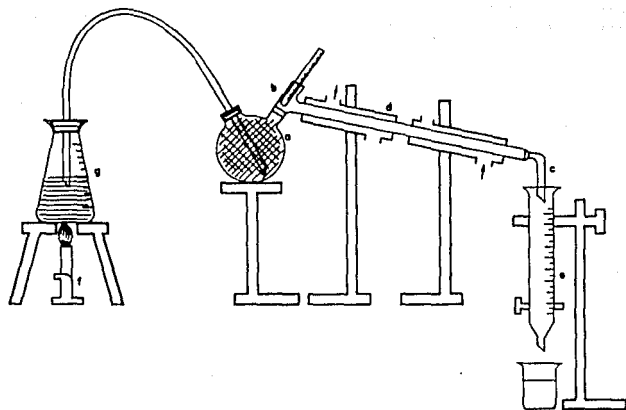
Se inyecta vapor al sistema por medio de un matraz Erlenmeyer de 2 litros (g) conectado por medio de tubo de vidrio a la boca del matraz de 500 ml. donde se encuentra el material (a).

Se pasan aproximadamente 100 gr. de la materia prima y se destilan por espacio de 2 a 3 horas. La cantidad de aceite esencial destilado en este tiempo y medido en la bureta se reportará como el contenido total aproximado de aceite esencial de la planta (en volumen). Una vez determinada la densidad del aceite se reporta en % en peso.

En determinación se hizo por triplicado, para las diferentes condiciones en que se encuentre la materia prima.

La utilización de dos refrigerantes se hace con el fin de hacer más eficiente la condensación. (1.14).

FIGURA 9. EQUIPO PARA LA EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL.  
DESTILACION POR ARRASTRE DE VAPOR.



## 5. DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE LA EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL.

Para llevar a cabo un proceso de destilación, se deben encontrar las condiciones óptimas del proceso, para obtener los mejores resultados en un tiempo mínimo.

### PROCEDIMIENTO:

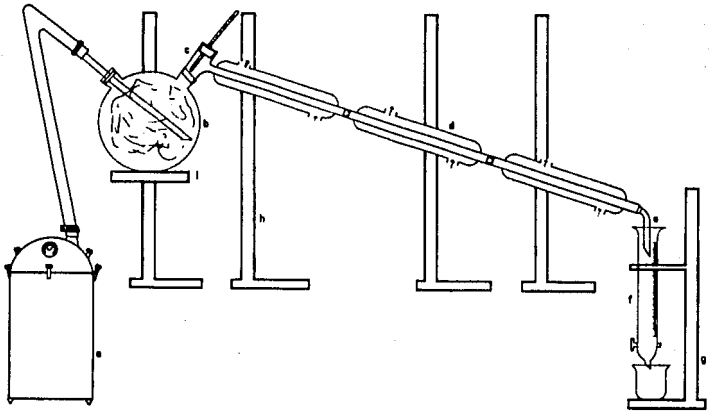
Se instala un equipo similar al utilizado en la determinación de aceite esencial, como fuente de calor y productor del vapor se utilizará un autoclave (a) ésta irá unida a un matraz de dos bocas esmeriladas de 24/40 (b), la otra boca con junta esmerilada va unida a una "t" de destilación (d), con juntas esmeriladas 24/40, un termómetro unido a la "t" de destilación (d), tres refrigerantes con juntas esmeriladas 24/40 unidos a la "t" de destilación (e), un colector con junta esmerilada 24/40 (f), una bureta con llave de vidrio (g), 5 soportes universales (h), un anillo metálico (i).

Se inyecta vapor producido por la autoclave al matraz de dos bocas donde se tiene el material (b). (Fig. 10).

Se pesa la cantidad requerida para la extracción, se utilizó tallo y hoja por separado. Se hicieron ensayos en muestras frescas y secas con el objeto de verificar en que condiciones (fresca o seca) y en que parte de la planta hay mayor rendimiento y mejor porcentaje de extracción. Durante la extracción, se toman lecturas cada 5 minutos del aceite recibido, cuando se obtiene volumen de aceite por tiempo de destilación y no se observa incremento en el volumen total del aceite colectado, se hace la lectura, se continúa la destilación por 30 min. adicionales y se suspende la destilación. Esto se hizo por triplicado, empleando lotes de 100 a 150 gramos del material.



FIGURA 10. EQUIPO DE DESTILACION PARA LA OPTIMIZACION DE LA EXTRACCION.



## 6. OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL.

Una vez determinadas las condiciones y el tiempo óptimo de extracción del aceite esencial se procedió a obtener mayores cantidades de aceite (aproxinadamente de 50 a 80 ml.) para su posterior fraccionamiento y evaluación fisicoquímica. para esto se partió de lotes de 3 Kgs., fueron cuatro lotes del material seco.

Esta cantidad se toma considerando el rendimiento reportado en la bibliografía para el aceite, que es de 0.55 a 0.85% (38).

### PROCEDIMIENTO:

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que para la optimización de la extracción del aceite (fig.10). Sólo se pondrán cantidades mayores de muestras, de aproximadamente de 300 a 400 grs. El aceite obtenido se fue guardando hasta obtener la cantidad suficiente en frasco color ámbar para secarlo del agua que lleva consigo al separarlo en la destilación en la bureta, se seca con sulfato de sodio anhidro. La utilización de los tres refrigerantes se hace con el fin de tener una condensación más eficiente y evitar pérdidas de los compuestos aromáticos.

## 7. FRACCIONAMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO.

El fraccionamiento tiene como objetivo la separación del aceite volátil en varias fracciones de acuerdo a sus puntos de ebullición.

En la mayoría de los casos es efectuada por destilación seca al vacío. Un aceite volátil nunca debe ser fraccionado a presión atmosférica, porque la alta temperatura causa descomposición y resinificación, por lo que el destilado adquiere un olor y propiedades fisicoquímicas diferentes.

El aceite esencial es usualmente destilado sólo, sin agua dentro del matraz (o de la retorta o reactor) ó inyección de vapor al destilado que contiene el aceite.

#### PROCEDIMIENTO:

Se instala un equipo (Fig.11) formado por un matraz de pera de dos bocas con juntas esmeriladas 14/23 (a) con capacidad de 50 ml., una columna de fraccionamiento con juntas esmeriladas 14/23 (b), un refrigerante recto con juntas esmeriladas 14/23 (c), una "t" de destilación con juntas esmeriladas 14/23 (d), un colector con junta esmerilada 14/23 (e), tres soportes universales, un anillo metálico, una tela de alambre, un mechero bunsen (f).

Se calienta el sistema por medio de un baño de nujol (g), la columna de fraccionamiento es empacada con pequeños trozos de tubo de vidrio y cuentas, es aislada cubriéndola con papel aluminio para evitar pérdidas de calor.

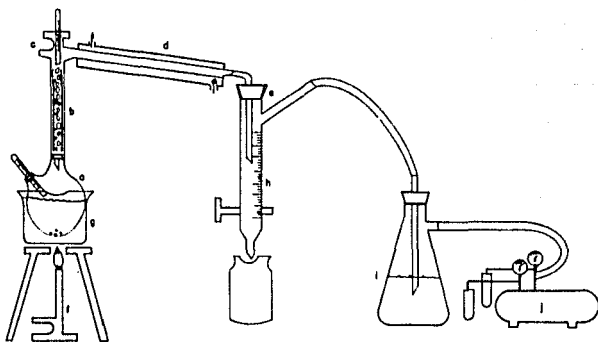
El destilado es colectado en una bureta (h) la cual tiene acondicionado en un extremo un tubo que mediante una manguera va conectado a una trampa de vacío (i). Esta trampa consiste de un matraz Kitasato conteniendo agua, la cual va conectada a través de una manguera a la bomba de vacío.

Se adaptan al sistema dos termómetros, uno de ellos en la boca del matraz de pera (k) para registrar la temperatura a la que se encuentra el aceite esencial y un segundo termómetro (l) introducido en la parte superior de la columna de fraccionamiento para determinar la temperatura de la muestra condensada.

Las fracciones colectadas se almacenan en frascos de vidrio color ámbar para evitar la oxidación del aceite.

Se eliminaron los terpenos del aceite, ya que a su carácter insaturado, estos oxidan y resinifican fácilmente bajo la influencia del aire y luz, o bajo condiciones impropias de almacenamiento, los cuales significan - deterioro del olor y sabor del aceite. Los terpenos indeseables son - eliminados desechando la primera fracción del destilado (1,15).

FIGURA 11. EQUIPO DE FRACCIONACION DEL ACEITE ESENCIAL.



## 8. DESCRIPCION DEL PERFIL SENSORIAL.

De la importancia directa de los sabores químicos, es la evaluación sensorial. Ya que se tiene la necesidad de definir las técnicas para llevar a cabo la medición de calidad, y la relativa producción responsable, particularmente con el olor y el sabor. Los métodos de producción a gran escala - ahora aplicados a algunos productos que son suplementados a dietas, lo que complica llevar un control más crítico de todas las materias primas usadas. El producto cambia de lote a lote o de tipo de producción al siguiente, que puede ser detectado a través de las comparaciones del perfil de control de calidad.

Como la percepción del sabor y el olor son fundamentalmente juicios humanos, muchos métodos de evaluación y análisis del olor y casi todos los medios de analizar el sabor están relacionados con evaluación sensorial.

El sabor se ha definido como una sensación compleja que comprende el gusto, el olor, aspereza, suavidad, lo caliente y lo frío. El umbral, es el grado en que se logra estimular los botones gustativos y con ello poder identificar alguna sensación del sabor que se logra percibir (15,24).

### Procedimiento:

Se hace una evaluación del aceite esencial, con:

- Aroma.- para poder percibir mejor el aroma del producto, se utilizarán trozos de algodón, a los cuales se les pondrán algunas gotas de las muestras y se colocan en frascos color ámbar y se cierran, para no perder el aroma, se anota la primera impresión recibida.
- Sabor.- Se hace una dilución al 10% en alcohol etílico del aceite esencial. De la dilución, se dosifica 0.04 ml. en 100 ml. de agua con jarabe de sacarosa a 10° Brix. Se anota la primera impresión del sabor, la impresión que deja en la boca y la garganta.

- Color y apariencia.- Se coloca una pequeña cantidad de aceite en un tubo de ensayo y se observa a contra luz.

## 9. EVALUACION FISICOQUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL.

Desde luego que para el control de calidad de los saborizantes y productos similares, son básicos los análisis organolépticos, pero también son de gran importancia y necesarios otros tipos de análisis, tales como las pruebas fisicoquímicas. Estas pruebas se basan en las propiedades físicas y químicas de las sustancias, las cuales dependerán del grado de pureza de las sustancias (1).

Las siguientes pruebas fisicoquímicas fueron llevadas a cabo.

### 9.1 Gravedad específica.

La gravedad específica es un criterio importante a la calidad y pureza de un aceite esencial. Los valores para aceites varía entre los límites de 0.696 a 1.188 a 20°C. En general siendo menor de 1.00.

La gravedad específica de un aceite esencial a 20°/20° puede ser definida como la relación del peso de un volumen dado de aceite esencial a 20°C con el peso y un volumen igual de agua a 20°C.

Los picnómetros ofrecen el método más conveniente y rápido para la determinación de la gravedad específica (1, 15, 29).

#### Procedimiento:

Limpia el picnómetro con solución crómica. Llena el picnómetro con agua previamente hervida y fría (20°C). Pesa el picnómetro exactamente. Limpia el picnómetro varias veces con alcohol y finalmente

con éter. Repetir el mismo procedimiento empleado, ahora el aceite esencial.

- Cálculos:

$$\text{Gravedad específica a } 20^{\circ}\text{C}/20^{\circ} = \frac{(C - A) - (B - A)}{(B - A)}$$

Donde:

A = Peso del Picnómetro vacío.

B = Peso del Picnómetro + agua a  $20^{\circ}\text{C}$

C = Peso del Picnómetro + aceite esencial a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Esta determinación se hace a  $20^{\circ}\text{C}$ , porque así viene especificado en bibliografía, pero se puede hacer a cualquier otra temperatura, pues existen valores de corrección por temperatura (1,15).

## 9.2 Índice de Refracción.

Cuando un rayo de luz pasa de un medio de baja densidad a un medio de mayor densidad, es inclinado o "refractado" con respecto a lo normal. Si "a" representa el ángulo de refracción y "b" el ángulo de incidencia, de acuerdo a la Ley de Refracción:

$$\frac{\text{Sen } a}{\text{Sen } b} = \frac{N}{n}$$

Donde: n es el índice de refracción de la menor densidad y N es el índice del medio de mayor densidad.

Los refractómetros ofrecen un método rápido y conveniente para la determinación de esta constante física. El refractómetro de Pufrich y el refractómetro de Abbe, son muy adecuados.

El tipo de Abbe con un rango de 1.3 a 1.7 es recomendado para análisis de aceites esenciales. Las lecturas pueden ser hechas directamente - sin consultar tablas de conversión a 20°C (1.14, 15).

#### Procedimiento:

Llevar el refractómetro a una posición tal que difunda luz natural o alguna forma de luz artificial para obtener iluminación. Circular a través de los prismas del refractómetro con alcohol y después con éter. - Abrir el prisma doble y colocar unas gotas de la muestra de aceite dentro de la apertura formada. Cerrar los prismas y dejar unos minutos - antes de hacer la lectura, mover la regla que mide los ángulos hacia adelante hasta que el campo de visión es dividido en dos fracciones, una iluminada y una oscura. Leer el índice de refracción del aceite en la escala a 20°C. se usará un aparato Bausch and Lomb. Esta determinación se hizo tres veces para la muestra (28).

### 9.3 Solubilidad en Alcohol

Muchos de los aceites esenciales son sólo ligeramente solubles en agua y son inmiscibles en alcohol absoluto. En general aceites ricos en - constituyentes oxigenados (alcoholes, ésteres, aldehídos, acetonas, - lactonas, etc.) son más solubles en alcohol que los aceites ricos en terpenos.

La solubilidad de un aceite puede cambiar con la edad. La polimerización es usualmente acompañada con una disminución en la solubilidad.

#### Procedimiento:

Previamente se preparan soluciones de etanol de las siguientes concentraciones: (%) 50, 60, 65 70, 75, 80, 90 y 96%.



Se pone 1 ml. de aceite esencial en una probeta de 10 ml. y se añaden lentamente pequeñas cantidades del alcohol del porcentaje a ensayar y se agita después de cada adición. Cuando se obtiene primero una solución, se registra el grado y volumen de alcohol requerido.

Continuar las adiciones de alcohol hasta que los 10 ml. han sido adicionados en alcohol, registrar el punto donde ocurre este fenómeno.

En el ensayo en que no se obtiene una solución, repetir la determinación, empleando alcohol de más alta concentración. Esta determinación se efectúa a 20°C (1).

#### 9.4 Análisis por Cromatografía de Gases.

La cromatografía es la separación de dos o más compuestos de una muestra, basada en sus diferentes velocidades de migración.

En el cromatógrafo se usa un gas acarreador (fase móvil) que bajo presión mueve una muestra vaporizada a través de una fase estacionaria (columna), donde se efectúa la separación, luego pasa al detector donde se convierte en una señal eléctrica, la cual puede medirse en un graficador.

Los gases empleados más comunes son: Helio, Nitrógeno, Argón e Hidrógeno.

Un flujo demasiado elevado es causa de separaciones incompletas y flujo demasiado lento dará altos tiempos de retención y picos difusos. - Una velocidad de flujo típica para columnas cortas es de 10 a 50 ml/mfn.

La columna es la parte más importante del Cromatógrafo de gases y consiste en un tubo de metal o vidrio con soporte sólido en su interior.

La mayoría de estas columnas se hacen de acero inoxidable.

Por medio de un dispositivo de inyección apropiado, la muestra por analizar se introduce en la parte superior de la columna. Un volumen adecuado es de 0.05 a 0.1 ml. aunque algunos detectores pueden tener mayor rango de detección y requiere entonces de cantidades aún menores.

La cromatografía de los aceites esenciales es fácilmente interpretada en un cromatógrafo de líquidos o de gases, por dos razones:

- a) El aceite esencial de cada especie es rico en alguna sustancia.
- b) El detector únicamente registra los componentes que tengan absorber encia hasta 254 nm.

Es más común el uso del Cromatógrafo de gases, por ser más económico, y porque se obtienen resultados confiables, aunque no tan exactos como con el cromatógrafo de líquidos (1,21,31).

#### Procedimiento:

El análisis de cromatografía de gases practicado en el aceite esencial se realizó con el siguiente equipo:

- Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B.

#### Condiciones de trabajo:

- Columna Carbowax OV-101-15% en Chrom WHP Malla 80/100
- Longitud de columna: 2 Mts. x 1/3 s.s.
- Soporte sólido: Chromosorb blanco.
- Fase líquida: Metil silicona 15%
- Gas acarreador: Nitrógeno ( $3\text{Kg}/\text{Cm}^2$ )
- Aire ( $5\text{ Kg}/\text{Cm}^2$ )

- Flama: Hidrógeno (5 Kg/Cm<sup>2</sup>)
- Flujo: 50 ml/Min.
- Temperatura: 175°C (isotérmica)
- Temperatura de flama: 105°C
- Atenuación: 1024 x 10
- Velocidad de carta: 1 Cm/Min.

#### Procedimiento:

Se enciende el cromatógrafo y se deja calentar durante 10 a 20 Min., manteniendo el trabajo de éste en condiciones isotérmicas.

Ya que el aparato se ha calentado, se inyecta la muestra con una microjeringa de 20  $\mu$ l. y se registran en un papel especial todos los datos de trabajo del cromatógrafo, así como de la muestra en cuestión y se deja el tiempo necesario para el análisis de la sustancia; después de esto, ya estará listo el cromatógrafo para la inyección de la siguiente muestra. Se recomienda lavar la microjeringa muy bien con alcohol antes de volverla a usar, con el fin de que no contamine la muestra siguiente.

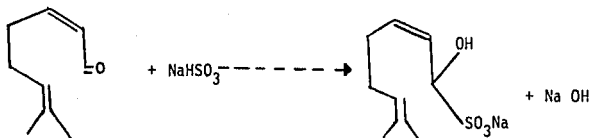
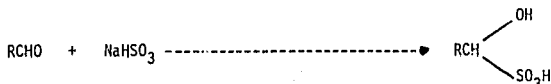
Se hicieron cromatogramas de muestras patrón y muestras problema. El análisis de estos cromatogramas se hizo determinando, el tiempo de retención, la amplitud, altitud de las curvas presentes en las gráficas, y por método analítico, ya sea por cálculo de área o por peso, se determine el contenido de los diferentes compuestos del aceite y con estos datos poder determinar qué tan eficiente fue la fraccionación llevada a cabo anteriormente, además ayuda a evaluar por tanto la calidad obtenida del aceite.

### 9.5 Determinación Cuantitativa de Aldehdos (como Citral) en el Aceite - Esencial de Té Limón .

La mayoría de aldehdos, alquilmetil cetonas y cetonas cíclicas reaccionan con una solución saturada de bisulfito sódico para formar compuestos por adición.

#### a) Método del Bisulfito.

Es un proceso de absorción basado en la reacción general del Citral más sulfito de sodio.



Citral. + Bisulfito de Sodio

Por agitación fuerte del aceite esencial con la solución acuosa caliente de bisulfito de sodio en compuestos de adición.

La reacción es reversible y el aldehdo o la cetona puede recuperarse haciendo reaccionar el compuesto de adición con carbonato sódico acuoso o bien con ácido clorhídrico diluido. Se hace esta reacción en un frasco especialmente diseñado que se le conoce con el nombre de Cassia, el cual tiene un cuerpo en forma de bulbo y un largo cuello delgado, graduado en divisiones de 0.1 ml. (1,15, 31).

**Procedimiento:**

En un frasco de Cassia de 150 ml., poner 75 ml. de la preparación de la solución acuosa de bisulfito de sodio al 40% (/Vol.) se pipetea exactamente 10 ml. del aceite en el frasco, se agita vigorosamente; frecuente mente puede resultar una masa semisólida.

Sumergir el frasco en un vaso de precipitado con agua en ebullición, - agitándose ocasionalmente hasta que un compuesto sólido se ha formado, adicionando solución extra de bisulfito de sodio (aproximadamente de - 25 ml). Para asegurar la completa reacción del aldehído con el bisulfito de sodio, se vuelve a agitar.

Se deja reposar en el mismo vaso de precipitados por 10 Min. para que - el aceite logre subir a la superficie, y se adiciona suficiente solu-- ción de bisulfito para que no reaccione en el cuello del frasco.

Algunas gotas de aceite adherido a los lados son hechas para subir en el cuello del frasco, se debeña hacer una rotación rápidamente entre las palmas de las manos. Después de enfriar el frasco a temperatura del - cuarto, medir la suma del aceite que no reaccionó.

El contenido de aldehídos puede entonces ser calculado por medio de - la siguiente fórmula:

$$\% \text{Aldehídos} = 10 (10 - \text{número de ml. de aceite sin reaccionar}).$$

**10. APLICACION DEL ACEITE ESENCIAL EN FORMULACIONES.**

Para la evaluación del aceite esencial en adición a algunos productos, - se elaboraron las siguientes formulaciones:

- a) Gomas.
- b) Gelatinas.
- c) Bebidas Carbonatadas no Alcohólicas (refrescos).

Se usaron para esta evaluación:

- Aceite esencial comercial, proporcionado por la Compañía Krauss de México.
- Aceite esencial obtenido en el laboratorio.
- Además de los productos comerciales, que se encuentran en el mercado, - para su comparación con los anteriores productos elaborados.

a) Elaboración de Gomas.

<u>INGREDIENTES</u>	<u>FORMULA BASE</u>
Azúcar	33.0 partes
Glucosa	33,0 partes
Agua (1+2)	30.0 partes
Grenetina	3.0 partes
Ac. Cítrico	0.5 partes
Saborizante	El necesario.
Color	El necesario
	<hr/>
	100.0 partes.

Preparación:

- Hidratar la grenetina en 20 partes de agua, a temperatura ambiente.
- Mezclar el azúcar, glucosa y las 10 partes de agua y cocer a una temperatura de 103°C.

- Evaporar el volumen al 50% del cocido, agitando lo suficiente para no incorporar aire.
- Teniendo el volumen suficiente, quitar del fuego y adicionar la grenetina hidratada, homogeneizándolo bien.
- Se adiciona la sal, ácido cítrico, color y saborizante, mezclándose bien.
- Se hace una cama de almidón en donde se hacen moldes para las gomitas y ahí se vacía el cocido (2,7).
- Se deja secar, metiéndose en una estufa a 45°C, durante 24 Hrs.
- Se desmoldan, se limpia el exceso de almidón, cubriéndose posteriormente con azúcar.

Se partió de la fórmula base, se fue modificando hasta llegar a la fórmula ideal para igualar las características, de color, textura, aroma y sabor de una gomita comercial.

Se elaboraron gomitas empleando un aceite comercial y un aceite obtenido experimentalmente (figura 12).

#### b) Elaboración de Gelatinas.

<u>INGREDIENTES</u>	<u>FORMULA BASE</u>
Grenetina	2.37 partes
Azúcar	14.28 partes
Ac. cítrico	0.18 partes
Agua	83.26 partes
Color	El necesario
Saborizante	El necesario
	<hr/>
	100,0 partes

**Procedimiento:**

- Hacer una premezcla con todos los ingredientes.
- Calentar el agua a ebullición (92°C).
- Quitar el fuego y adicionar la premezcla.
- Homogeneizar bien.
- Vaciar la mezcla en moldes.
- Refrigerar para solidificar (4°C).

Se partió al igual que en la elaboración de gomitas de la fórmula base, se fué modificando la cantidad de los ingredientes para encontrar las características de sabor, aroma, color y textura, semejantes a una gela tina comercial (2,26).

Se prepararon gelatinas con aceite comercial y aceite esencial obtenien do experimentalmente (figura 13).

c) Elaboración de una Bebida Carbonatada no Alcohólica.

INGREDIENTES

Azúcar refinada  
Ac. cítrico  
Agua carbonatada  
Saborizante

FORMULA BASE

20.0 partes (10-12°Brix)  
0.3 partes  
79.0 partes  
El necesario  
100.0 partes



**Procedimiento:**

- Lavar el aceite esencial en una solución de alcohol-agua al 60% y dejar reposar 24 hrs., posteriormente se separa el aceite de la solución de lavado.
- Preparar un jarabe con azúcar refinada y 30 partes del agua carbonatada, disolver el azúcar y filtrar.
- Adicionar a este jarabe el ácido cítrico disuelto previamente en 10 partes de agua y filtrar.
- Adicionar el aceite lavado.
- Homogenizar.
- Preparar la cantidad necesaria.
- Envasar y cerrar herméticamente.

**Nota:** Se uso agua carbonatada, debido a que no se cuenta con el equipo necesario para llevar a cabo esta operación (13,39).

Se prepararon dos bebidas: una con aceite esencial comercial y la otra - con aceite esencial obtenido experimentalmente. (figura 14).

Fig.12 Diagrama de Flujo para la Elaboración de Gomititas.

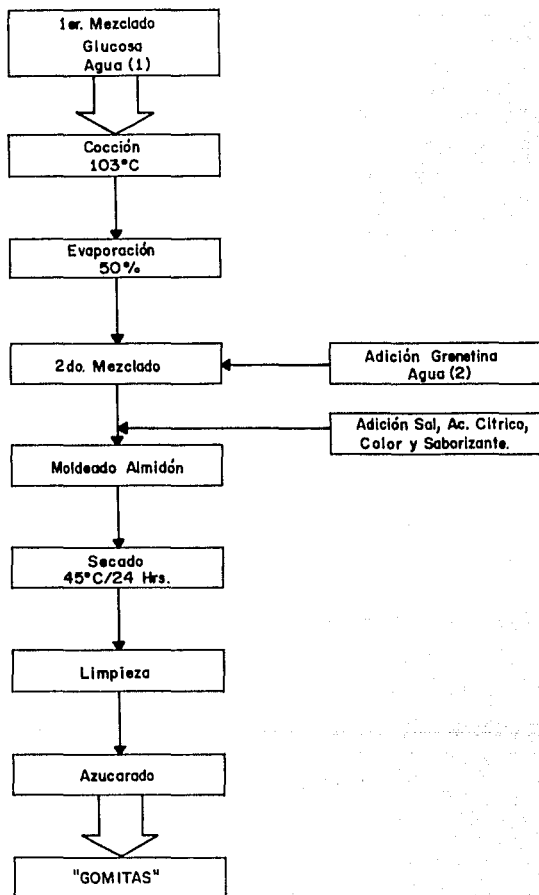


Fig.13 Diagrama de Flujo para Elaboración de Gelatinas.

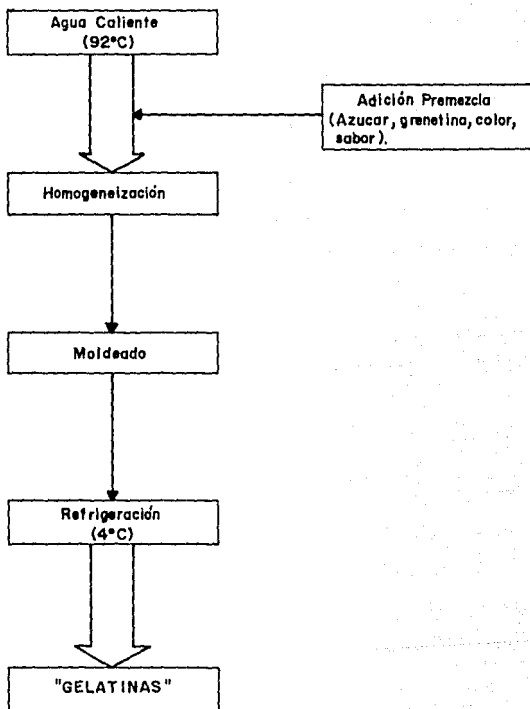
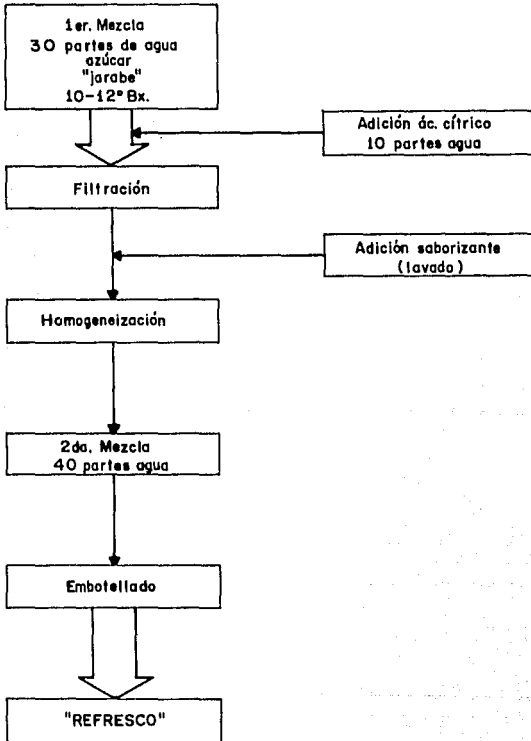


Fig.14 Diagrama de Flujo para Elaboración de Bebidas Carbonadas no Alcohólicas.



## 11. EVALUACION SENSORIAL DE LOS PRODUCTOS ELABORADOS.

Una evaluación sensorial es hecha por los sentidos del gusto, color y tacto, que son juicios humanos. La compleja sensación de los resultados de la interacción de nuestros sentidos es usado como medida de calidad del alimento en programas para el control de calidad y el desarrollo de nuevos productos. Esta evaluación puede ser llevada a cabo por una o varios cientos de personas.

Cuando la gente es usada como un instrumento de medición, es esto necesario para un control rígido de todos los métodos testigos y condiciones para vencer errores causados por factores psicológicos.

La condición física y mental del panelista, y la influencia de los testigos ambientales afectan las pruebas sensoriales.

Pequeños paneles son usados en pruebas de palatibilidad de alimentos. - Estos también usados en pruebas de aceptación preliminar. Los paneles pueden ser usados para determinar:

- a) El mejor procedimiento del proceso.
- b) Variedades adecuadas de la materia prima.
- c) Cocinados preferidos y temperaturas de procesamiento
- d) Efectos de la sustitución de un ingrediente por otro.
- e) Mejores procedimientos de almacenamiento.
- f) Efectos de insecticidas y fertilizantes en los sabores en alimentos.

- g) Efectos de alimentos en el sabor, guardando la calidad de la carne.
- h) Tamaño óptimo de piezas y su importancia.
- i) Efecto del color y aceptabilidad de alimentos.
- j) Recipientes adecuados para el uso de las materias primas.
- k) Comparación con productos de competencia (15,18,34).

**Procedimiento:**

- Evaluación Sensorial de los Productos.

Para evaluar la calidad sensorial de los productos, se utilizó una prueba de diferencia, que es la de Calificación (Score), el método estadístico ANOVA y la prueba de Rango Múltiple de Duncan.

- Preparación de las muestras.

Gomitas.- Se preparó 1 kg. de cada muestra (con aceite comercial y con aceite obtenido; el producto comercial con el que se van a comparar son, las gomitas "La Torre".

Gelatinas.- Se prepararon 2 litros de cada muestra (con aceite comercial y con aceite obtenido; el producto comercial con el que se va a comparar es, gelatinas "Burbuja", los moldes usados son de aproximadamente 100 ml.)

Bebidas carbonatadas (refrescos).- Se prepararon de cada muestra la cantidad suficiente para 3 refrescos de cada muestra (aproximadamente 769 ml. para cada botella de tamaño familiar), se prepararon con aceite comercial y con aceite obtenido; el producto con el que se van a comparar es "Teen".

-- Jueces.

Para la evaluación sensorial, se utilizaron un total de 15 jueces no entrenados, miembros de la facultad de Química, UNAM.

-- Métodos de Evaluación.

Las muestras desarrolladas se codificaron y los jueces las comparan, evaluando el sabor, aroma, textura y color.

Se basará en una escala de calificación de 1 (gusta mucho) al 7 (disgusta mucho).

La Evaluación sensorial se lleva a cabo de preferencia en un lugar con buena ventilación, bien iluminado, sin ruidos, un tono de color de pared neutro y mate, para evitar distracciones de los panelistas (14,18).

Los panelistas recibieron un cuestionario en donde se indica el tipo de evaluación y escala descriptiva que utilizarán para calificar el producto, en una forma muy clara.

La prueba estadística ANOVA (18) se llevó a cabo por medio de los siguientes cálculos:

-- El factor de corrección.

$FoCo = \frac{(Total)^2}{\text{número de veces cuantificada cada muestra}}$

-- Suma de Cuadrados, para muestras.

$$SCm = \frac{\text{Suma de los cuadrados del total de cada muestra}}{\# \text{ de juicios para cada muestra}} = FoCo$$

-- Suma de Cuadrados, para panelistas.

$$SCp = \frac{\text{Suma de cuadrados del total de cada panelista}}{\# \text{ de juicios por cada panelista}} - FoCo$$

-- Suma Total de Cuadrados.

$$STC = \text{Suma de los cuadrados de cada juicio} - FoCo.$$

La Carta de Análisis de Varianza (ANOVA) es entonces puesto como se muestra.

---

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F
Muestras				
Panelistas				
Error				
Total				

---

En donde:

GL- Grados de libertad de muestras es el # de muestras menos uno.

El Grado de Libertad para panelistas es el # de panelistas menos uno.

Error (1) para determinar el GL para "error" restar los valores obtenidos por las otras variables de el total.

(2) para determinar el SC para "error" restar los valores obtenidos de las otras variables del total\*

---

\*Sumar el valor de las muestras y panelistas, el cual dará un valor que será restado del total, que fue obtenido del STC y esto dará el valor correspondiente al error.



CM - El cuadrado medio por alguna variable es determinado por la división de SC por el respectivo GL.

F - La proporción de varianza o valor "F" de las muestras es determinado por la división de CM por el CM del error. El valor de "F" para panelistas por el CM del error.

Para determinar si existe o no diferencia entre las muestras, el valor de "F" teórica, que será obtenida de tablas estadísticas (18) para encontrar la "F" teórica a una proporción de varianza al 5% y al 1% para distribución de "F". Si el valor es mayor que la "F" calculada, no existirá una diferencia significativa entre las muestras, pero si "F" teórica es menor que la "F" calculada, nos indicará que hay diferencia significativa, ya sea al 5% o al 1%.

De ser así se seguirá la prueba de Rango Múltiple de Duncan, como es indicado:

$$\text{Muestra media} = \frac{\text{Calificación}}{\text{No. de panelistas}}$$

La muestra media es arreglada de acuerdo a su magnitud.

El error estándar de la muestra media:

$$SE = (CM) / \text{No. de juicios por cada muestra.}$$

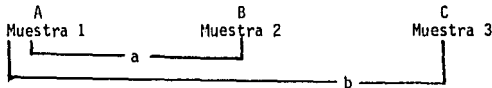
Los "rangos de significancia de la prueba corta" para 2,3,4 medias, etc. son determinados usando las cartas de Pruebas Múltiple F para el nivel de 5% y 1%. En este caso para determinar el nivel de 5%, en la carta es usada para encontrar el "Rango Estudiantizado"  $r_p$  para  $p=2,3,\dots$ , etc. con los grados de libertad. Estos valores son entonces multipli-

cados por el estandar del error de la media, para obtener el rango de significancia de la prueba corta, Rp. Así obtenido:

P	2	3	4	5	..... etc.
rp(5% y 1%)	valores obtenidos de la tabla (18)				
Rp	rp x SE				

La diferencia entre la muestra media es comparada con el rango adecuado de significancia de prueba corta para el rango bajo consideración, como se muestra a continuación.

- El valor más alto menos el más bajo,
- El valor segundo alto menos el más bajo, así sucesivamente, Ejem.



Rango      a = 2  
               b = 3

$$A-C = x > Rp(R_3)$$

$$A-B = x < Rp(R_2)$$

$$\frac{A}{B} \quad \frac{C}{B-C = x > Rp(R_2)}$$

C es significativamente diferente de A y B.

Por lo tanto, la media de la especie C fue significativamente menos - sensible que la de la especie A y B al nivel de 5% ó 1%.

Esta evaluación se hizo para cada característica a calificar en cada pro producto (sabor, aroma, textura, etc.)

En los cuadros 4, 5 y 6 se representan los cuestionarios de evaluación de los productos elaborados (gomitas, gelatinas y refrescos).

En la Figura 15 representa el Diagrama de Flujo general del trabajo realizado.

CUADRO 4  
CUESTIONARIO PARA EVALUACION DE LAS GOMITAS

PRODUCTO: GOMITAS

FECHA: \_\_\_\_\_

EVALUE EL SABOR, AROMA, TEXTURA Y COLOR DE LAS MUESTRAS QUE SE LE PRESENTAN DE IZQUIERDA A DERECHA, MARCANDO CON UNA CRUZ EL ESPACIO DE LA CALIFICACION QUE LE CORRESPONDA, ANTES DE PASAR A LA SIGUIENTE MUESTRA.

	358				621				564			
	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR
GUSTA MUCHO												
GUSTA MODERADAMENTE												
GUSTA LIGERAMENTE												
NI GUSTA NI DISGUSTA												
DISGUSTA LIGERAMENTE												
DISGUSTA MODERADAMENTE												
DISGUSTA MUCHO												

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ESTA TESIS NO DEBE  
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 5  
CUESTIONARIO PARA LA EVALUACION DE LAS GELATINAS

PRODUCTO: GELATINAS

FECHA: \_\_\_\_\_

EVALUE EL SABOR, AROMA, TEXTURA Y COLOR DE LAS MUESTRAS QUE SE LE PRESENTAN DE IZQUIERDA A DERECHA, MARCANDO CON UNA CRUZ EL ESPACIO DE LA CALIFICACION QUE LE CORRESPONDA, ANTES DE PASAR A LA SIGUIENTE MUESTRA.

	438				176				820			
	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR	SABOR	AROMA	TEXTURA	COLOR
GUSTA MUCHO												
GUSTA MODERADAMENTE												
GUSTA LIGERAMENTE												
NI GUSTA NI DISGUSTA												
DISGUSTA LIGERAMENTE												
DISGUSTA MODERADAMENTE												
DISGUSTA MUCHO												

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

CUADRO 6  
 CUESTIONARIO PARA EVALUACION DE LAS BEBIDAS CARBONATADAS  
 NO ALCOHOLICAS

PRODUCTO: REFRESCOS

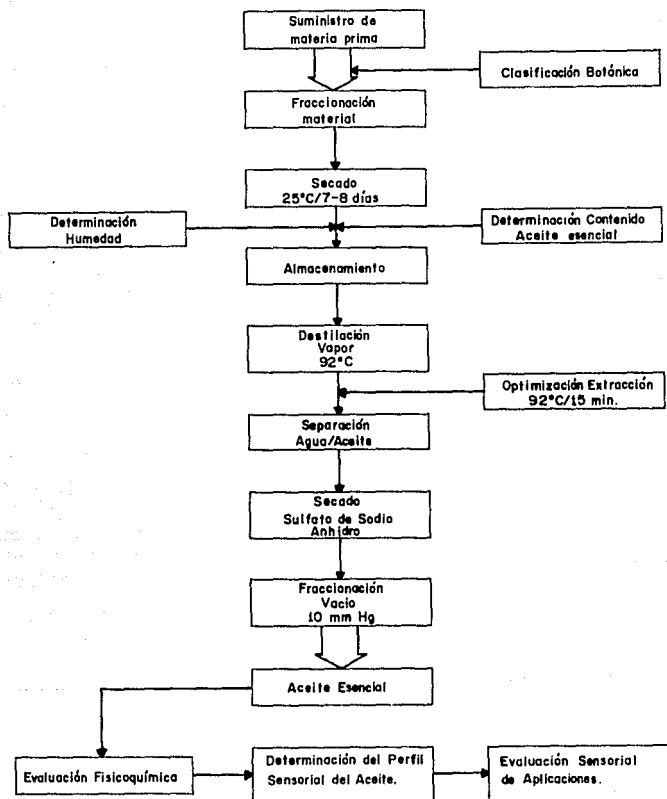
FECHA: \_\_\_\_\_

EVALUE EL SABOR, AROMA Y COLOR DE LAS MUESTRAS QUE SE LE PRESENTAN DE IZQUIERDA A DERECHA, MARCANDO CON UNA CRUZ EL ESPACIO DE LA CALIFICACION QUE LE CORRESPONDA, ANTES DE PASAR A LA SIGUIENTE MUESTRA.

	931			622			305		
	SABOR	AROMA	COLOR	SABOR	AROMA	COLOR	SABOR	AROMA	COLOR
GUSTA MUCHO									
GUSTA MODERADAMENTE									
GUSTA LIGERAMENTE									
NI GUSTA NI DISGUSTA									
DISGUSTA LIGERAMENTE									
DISGUSTA MODERADAMENTE									
DISGUSTA MUCHO									

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Fig. 15 Diagrama de Flujo General de la Obtención del Aceite Esencial.



## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 1. CLASIFICACION BOTANICA

En el Instituto de Biología, UNAM se realizó la clasificación del material empleado, gracias a la colaboración del Dr. Robert Birg, obteniéndose los siguientes resultados:

- Clase: Pinácea
- Familia: Gramineae.
- Género: Cymbopogon.
- Especie: Ceriferus
- Tipo: West Indian.

#### 2. DETERMINACION DEL TIEMPO DE SECADO

En los cuadros 4 y 5 se observan los valores correspondientes al tiempo requerido para llegar al porcentaje de humedad necesario para un buen manejo del material, observándose que entre el séptimo y el octavo día de secado, ya no existen cambios notables en la humedad presente en hoja y en tallo. Con esto se puede determinar el tiempo ideal de secado del material (Gráfica 1).

CUADRO 4. VARIACION DE HUMEDAD POR DIA DE SECADO EN HOJA

DIA	MUESTRA (GR.)	HUMEDAD (%)
1	1,050	80.0*
2	735	56.0
3	555	42.28
4	460	35.04
5	360	27.42
6	263	20.03
7	200	15.23
8	174	13.28

Temperatura = 25°C.

\*(14) Guenther, Ernest. The Essential Oils. Vol. I. 1952.



CUADRO 5. VARIACION DE HUMEDAD POR DIA DE SECADO EN TALLO

DIA	MUESTRA (GR.)	HUMEDAD (%)
1	959	85.00*
2	798	70.72
3	716	63.46
4	577	51.14
5	500	44.31
6	468	41.68
7	440	48.99
8	425	37.66

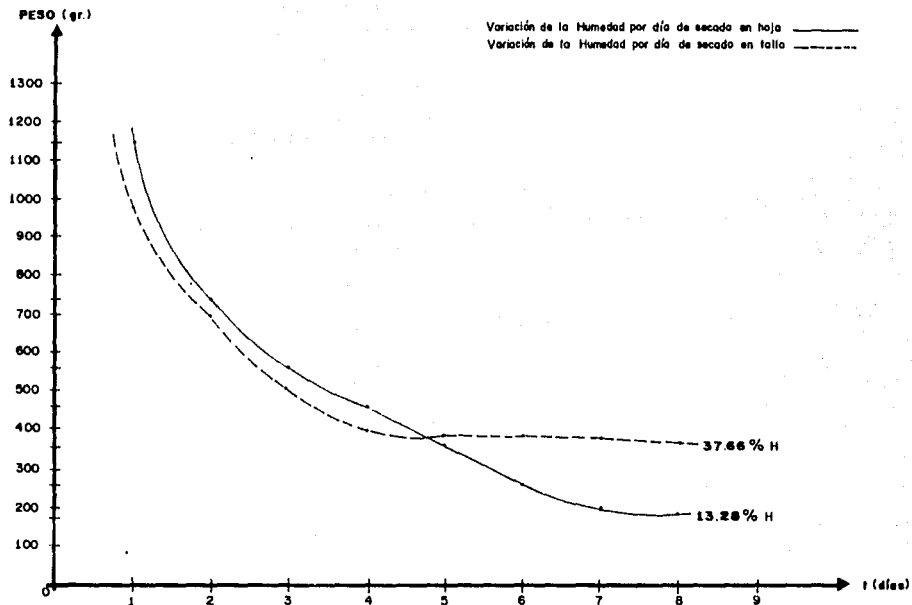
Temperatura = 25°C

\* (14) Guenther Ernest. The Essential Oils. Vol. I, 1952.

El primer día de secado, no es posible la determinación del porcentaje inicial, algunos autores mencionan un valor de alrededor del 80-85% de humedad, dependiendo si es hoja o tallo. El mayor valor de humedad estará siempre en el tallo.

En éste se conserva más la humedad que en la hoja, debido a su estructura celular y su menor superficie de contacto (14). Por consiguiente el tallo debe ser separado de la hoja, para evitar contaminaciones de todo el material, principalmente de mohos y con ello afectar la calidad del aceite y su rendimiento.

En el caso del secado de la hoja, son suficientes de 7 a 8 días para poder emplear el material con el porcentaje de humedad deseado, en cambio en el tallo, la humedad disminuye muy lentamente, desde el quinto día casi no hay variación en la disminución de ésta, además con valores altos (Gráfica 1).



GRAFICA 1. Variación de la Humedad por día.

### 3. DETERMINACION DE HUMEDAD POR ARRASTRE DE TOLUENO

Para un mejor control de humedad, el método por arrastre de tolueno es el más adecuado para el material empleado. Los resultados presentados en los cuadros 6 y 7 son valores promedio de cada lote del material ya seco, realizada la prueba por triplicado.

CUADRO 6.- DETERMINACION DE HUMEDAD POR ARRASTRE DE TOLUENO EN HOJA,

MUESTRA (gr.)	VOL. H <sub>2</sub> O EXTRADIDO (ml.)	HUMEDAD (%)
15	1.96	13,1
15	1.83	12.2
15	1.86	12.6
15	1.90	12,4

CUADRO 7.- DETERMINACION DE HUMEDAD POR ARRASTRE DE TOLUENO EN TALLO

MUESTRA (gr.)	VOL. H <sub>2</sub> O EXTRAIDO (ml.)	HUMEDAD (%)
15	6,0	39.96

Estos valores son más reales y confiables que los que se obtendrían por algún otro método tradicional, debido a que el material tiene mejor superficie de contacto con el tolueno, lo que hace que ocurra una mejor extracción de la humedad contenida en la planta, y es inmisible con el agua. Además que el valor obtenido será únicamente el proporcionado por el agua presente y no de algunos otros compuestos volátiles, que al final nos daría un valor alterado y no el real.

Se menciona que el material secado a condiciones ambientales retiene de un 10 a 20% de agua (14). El valor promedio de humedad presente en los cuatro lotes, es de aproximadamente 12.57%, el cual está dentro del rango establecido. El tallo mantiene un valor mucho más alto de humedad de 39.96%.

#### 4. DETERMINACION DEL CONTENIDO DEL ACEITE ESENCIAL

En el cuadro 8 se presenta el contenido de aceite en hoja y tallo (secos y húmedos). En él se observan, que bajo las condiciones de trabajo sólo en la hoja seca (12.57%) fue posible cuantificar el volumen de aceite.

Esto se debe básicamente al mínimo contenido de aceite en el resto de las muestras, a la presión de vapor y al tamaño de muestra empleada, ya que el tiempo de destilación fue relativamente grande y esto no afectó el resultado final.

CUADRO 8. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL.

	HUMEDAD (%)	MUESTRA (GRS.)	TIEMPO (HRS.)	VOLUMEN ACEITE (ML.)	PESO (%)	RENDIMIENTO (%)
TALLO FRESCO	85.00	100.0	3	--	--	--
TALLO SECO	39.96	100.0	3	--	--	--
HOJA FRESCA	80.00	100.0	3	--	--	--
HOJA SECA	12.57	100.0	3	0.7	0.62	0.7252

##### 5. OPTIMIZACION DEL PROCESO DE EXTRACCION

La optimización de la extracción del aceite en tallos y hojas se logró básicamente aumentando la presión de vapor (14). Este efecto se observa claramente en los resultados del Cuadro 9 y en la Gráfica 2. A un tiempo de 15 minutos prácticamente se logra extraer el máximo contenido de aceite. El efecto de la presión de vapor provoca la difusión del aceite esencial y agua caliente a través de la membrana, lo cual hace que en una parte de aceite volátil se disuelva en el agua presente en las glándulas. Esta solución de agua - aceite permite, por ósmosis (10), aunque la membrana -

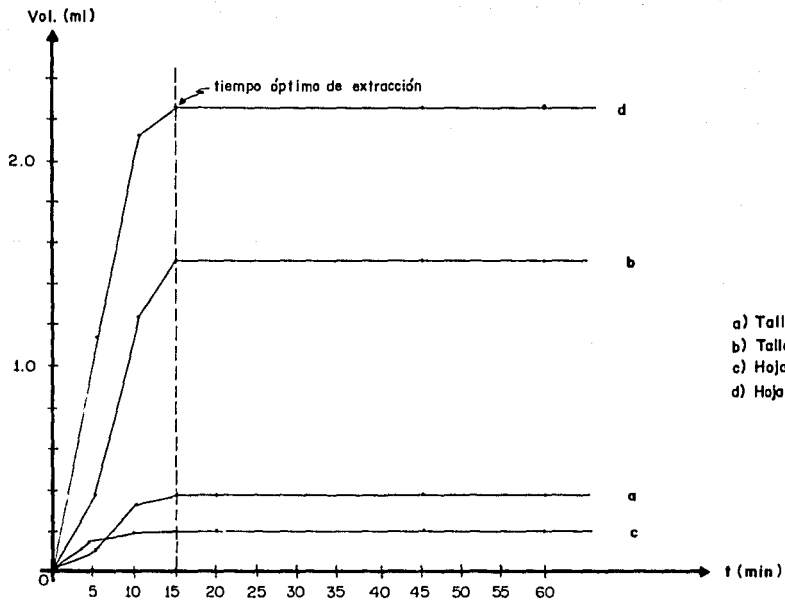
se hinche, llegar a la otra superficie, donde el aceite se vaporiza por el paso de vapor, arrastrando este aceite, el cual es el obtenido al final de la extracción.

Se debe llevar un control de temperatura, debido a que los aceites esenciales son inestables a altas temperaturas. Los valores representados son resultados promedio, realizados por triplicado en cada extracción.

Se puede considerar como condiciones óptimas de extracción a nivel laboratorio, a una presión de vapor mayor que la atmosférica y a un tiempo de 15 Min. de extracción.

CUADRO 9. DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL

MATERIAL	HUMEDAD (%)	MUESTRA (grs.)	VOL. ACEITE / TIEMPO (ML./MIN)						VOL. T (ml.)	PESO (%)	RENDIMIENTO (%)
			5	20	15	20	45	60			
TALLO FRESCO	85.00	909	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2638	0.1934
TALLO SECO	39.96	918	0.36	1.23	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3190	0.2393
HOJA FRESCA	80.00	379	0.13	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1759	0.2320
HOJA SECA	12.57	379	1.13	2.1	2.26	2.26	2.26	2.26	2.26	1.9876	0.7263



**GRAFICA 2.** Optimización de la extracción del aceite.

## 6. PROCESO DE EXTRACCION

En el Cuadro 10 se muestran los resultados de la extracción del aceite esencial obtenido de cada lote de hoja, teniéndose valores promedio en cada caso para su posible determinación del rendimiento total del aceite, y poder tener al final un valor más real y confiable.

Se trabajó con un total de 10509 gr, del material de hoja seca, que produjo un total de 76 ml. del aceite (1.66% peso), con una humedad promedio de 12.57% y 0.7263% de rendimiento del aceite esencial.

Los valores de rendimiento se pueden considerar buenos, ya que se deben tener en cuenta diferentes factores, como son:

- Variedad
- Epoca de corte
- Tipo de secado
- Almacenamiento
- Destilación llevada a cabo

Además de que el equipo empleado es a nivel laboratorio, y no se puede comparar con uno de mayores dimensiones, en donde se pueden mantener mejores controles, como son la presión de vapor, temperatura y sobre todo, la cantidad de material empleado, lo que origina tener una mayor calidad del aceite.



CUADRO 10. EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL

LOTE HOJAS	MUESTRA (grs.)	HUMEDAD (%)	VOL. ACEITE (ml.)	PESO (%)	RENDIMIENTO (%)
1	2715.0	13.1	19.2	16.88	0.7185
2	2539.0	12.2	18.3	18.30	0.7209
3	2640.0	12.6	19.1	16.76	0.7273
4	2615.0	12.4	19.4	17.03	0.7471

#### 7. FRACCIONACION DEL ACEITE ESENCIAL

La fraccionación del aceite fue llevada a cabo en un tiempo aproximado de 90 min. con un rendimiento 65.7%, que a simple vista puede sentirse bajo, pero se deben considerar algunos factores que influyen de manera importante; estos son algunos de ellos;

- Sellado hermético en todo el sistema de fraccionación.
- Eficiente condensador.
- Temperatura de proceso controlada.
- Eficiente vacfo.
- Trampa de vacfo, para evitar pérdidas de aceite aún mayores.
- Material de empaque ideal en la columna de fraccionación.

Si alguno de ellos falla, o no se tiene un control ideal sobre ellos, ocasionará cambios que pueden ser, tanto en cantidad como en la calidad final del aceite.

Como podemos ver, el proceso de fraccionación requiere de gran cuidado, lo que a nivel laboratorio resulta, un cuanto difícil, controlar los elementos que intervienen, aunque se debe de remarcar que el proceso dependerá básicamente, del punto de ebullición, la presión por vapor de los constituyentes del aceite y del equipo empleado.

Con todo lo anterior se puede afirmar que el rendimiento obtenido del aceite esencial es bueno. Además que se lograron eliminar en este proceso los compuestos dañinos, que afectarían sobre todo en el desarrollo de sabores, colores y aromas indeseables.

#### 8. CROMATOGRAFIA DEL ACEITE ESENCIAL

Para la determinación de la calidad del aceite, es importante conocer los constituyentes que lo forman de una manera cuantitativa y cualitativa, lo cual es posible por este método de análisis. (\*).

Los compuestos identificados fueron: Citral principalmente y Linalol, los otros componentes no se lograron identificar claramente.

En la Figura 26 se muestra el cromatograma patrón correspondiente al Citral, en las Figuras 27, 28 y 29 se muestran respectivamente, los cromatogramas de muestra de aceite sin fraccionar, aceite esencial fraccionado y muestra de aceite esencial comercial.

El Citral y el Linalol presentan puntos de ebullición similares a la presión con que se trabajó, por lo cual resulta lógica su presencia en el aceite aún después de fraccionado.

La evaluación cuantitativa se llevó a cabo por dos métodos que son con fiables.

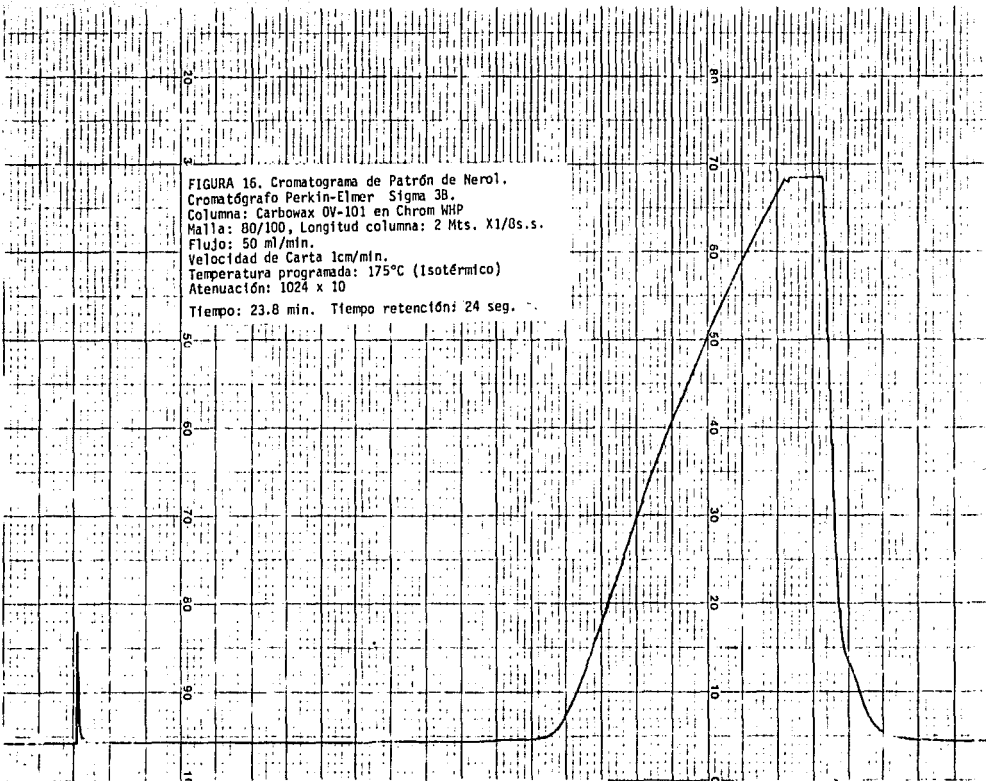
a) Por peso de los Cromatogramas en patrones y muestras (Cuadro 11 y - Cuadro 12).

b) Por Area (Cuadro 13 y Cuadro 14).

(\* Se usaron diferentes patrones de componentes que se pueden encontrar en el aceite esencial, esto con el fin de identificación de estos en las muestras problema (Figura 16-25), siendo las siguientes:

- Nerol.
- Decialdehdo.
- Dipentene
- 1-Linalol.
- Mircene.
- Metilheptanona.
- Citronelal.
- Furfural
- d-Limoneno
- Aldehdo Isovalérico.

FIGURA 16. Cromatograma de Patrón de Nerol.  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B.  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 Mts. X1/8s.s.  
Flujo: 50 ml/min.  
Velocidad de Carta 1cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmico)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 23.8 min. Tiempo retención: 24 seg.



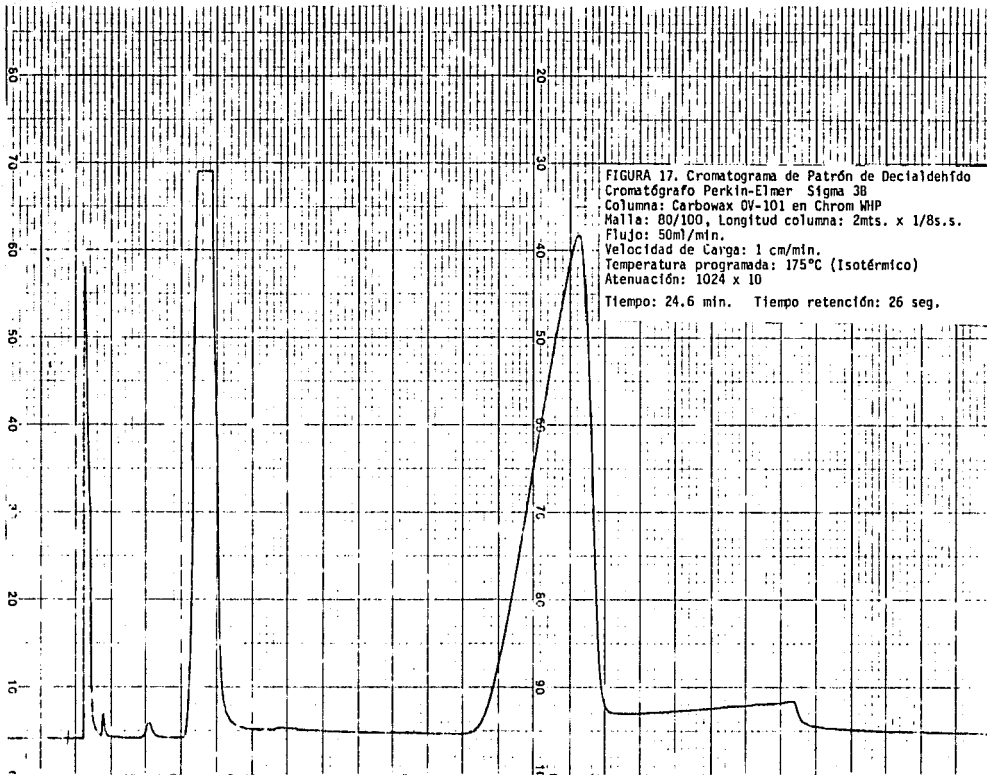


FIGURA 17. Cromatograma de Patrón de Decialdehído  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2mts. x 1/8s.s.  
Flujo: 50ml/min.  
Velocidad de Carga: 1 cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmico)  
Atenuación: 1024 x 10

Tiempo: 24.6 min. Tiempo retención: 26 seg.

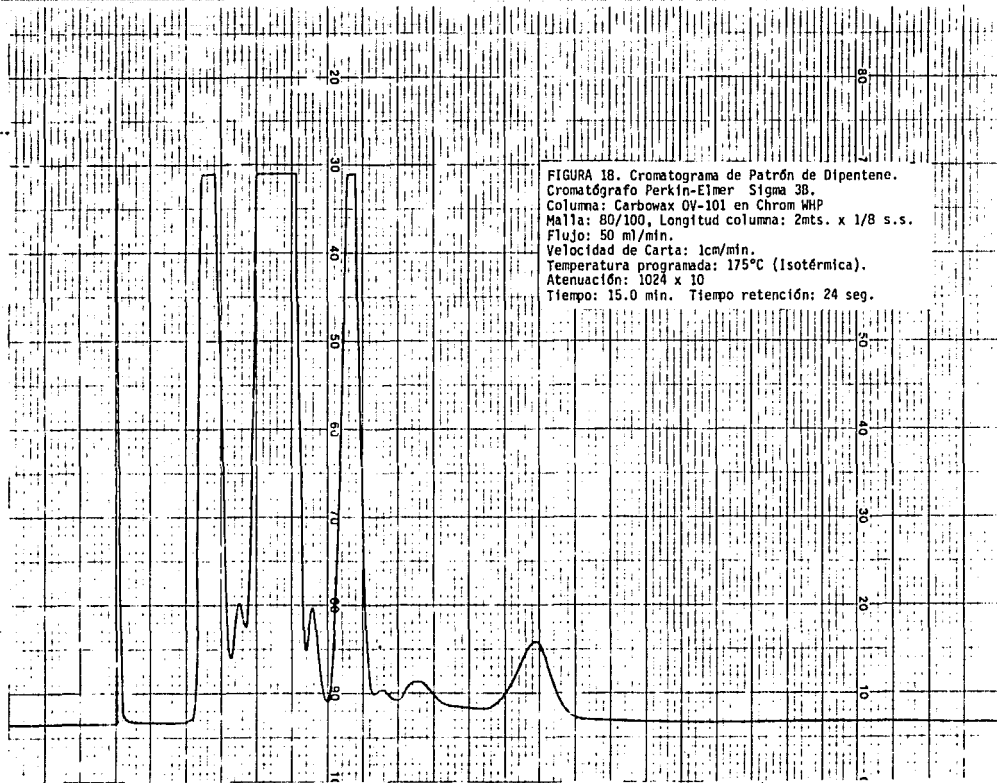
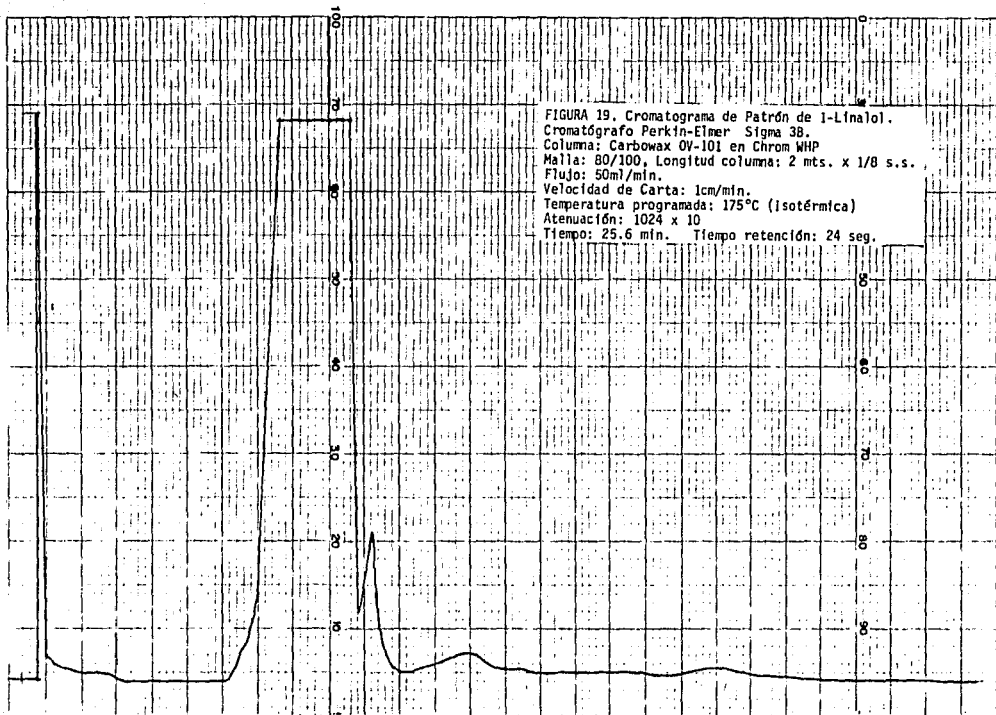


FIGURA 18. Cromatograma de Patrón de Dipentene.  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B.  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2mts. x 1/8 s.s.  
Flujo: 50 ml/min.  
Velocidad de Carta: 1cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica).  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 15.0 min. Tiempo retención: 24 seg.



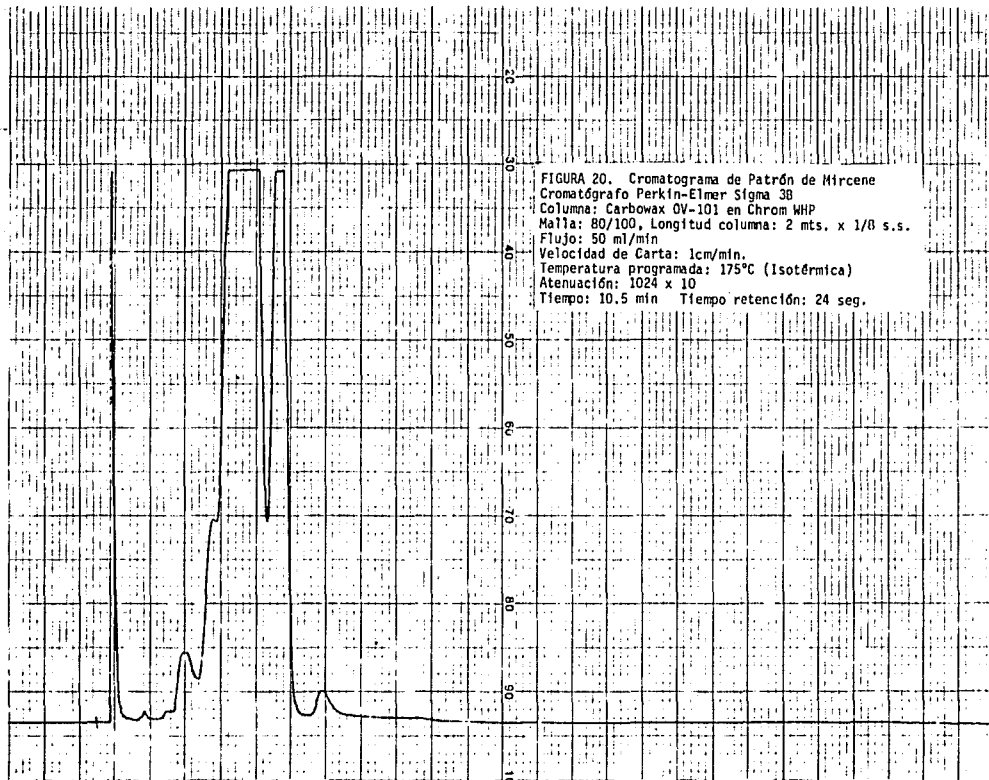


FIGURA 20. Cromatograma de Patrón de Mircene  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 mts. x 1/8 s.s.  
Flujo: 50 ml/min  
Velocidad de Carta: 1cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 10.5 min Tiempo retención: 24 seg.

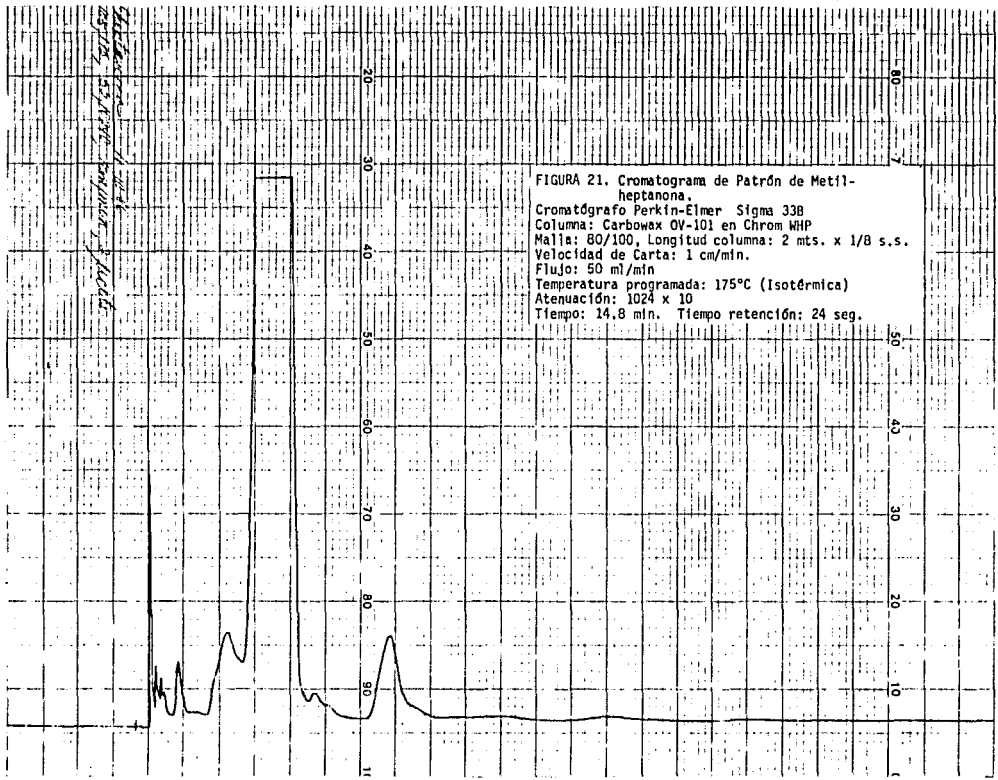


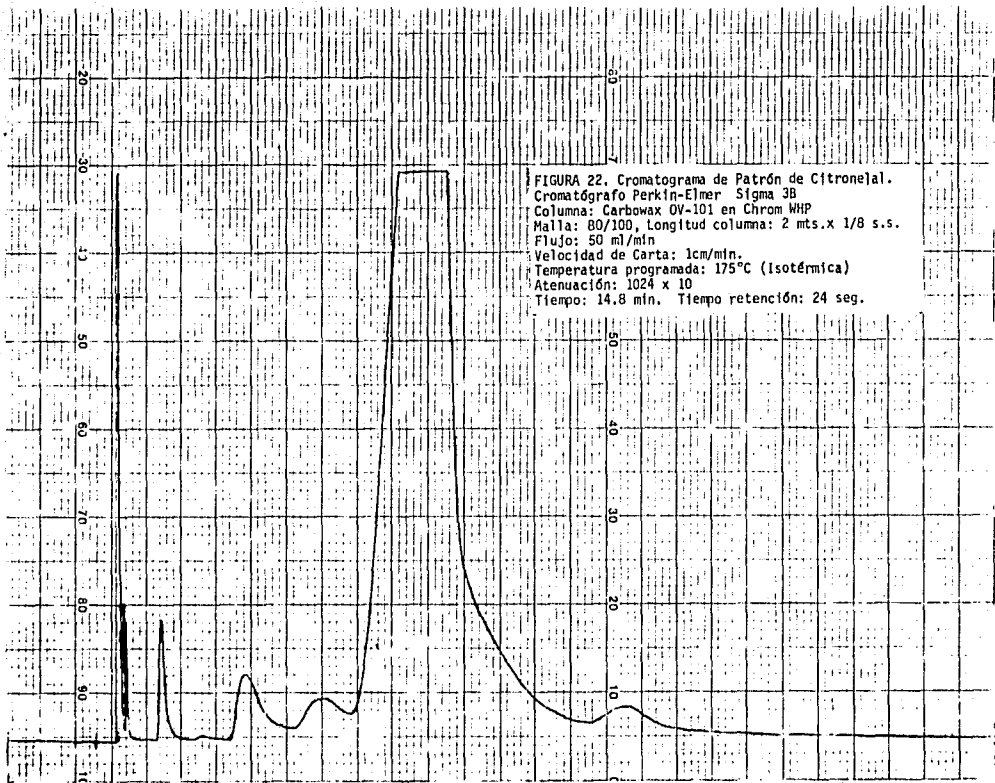
Identificación de Metilheptanona  
25/12/82 53.17700 Parajana y 5.10000

20  
30  
40  
50  
60  
70  
80  
90  
11

80  
7  
50  
40  
30  
20  
10  
1

FIGURA 21. Cromatograma de Patrón de Metilheptanona.  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 33B  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 mts. x 1/8 s.s.  
Velocidad de Carta: 1 cm/min.  
Flujo: 50 ml/min  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 14.8 min. Tiempo retención: 24 seg.





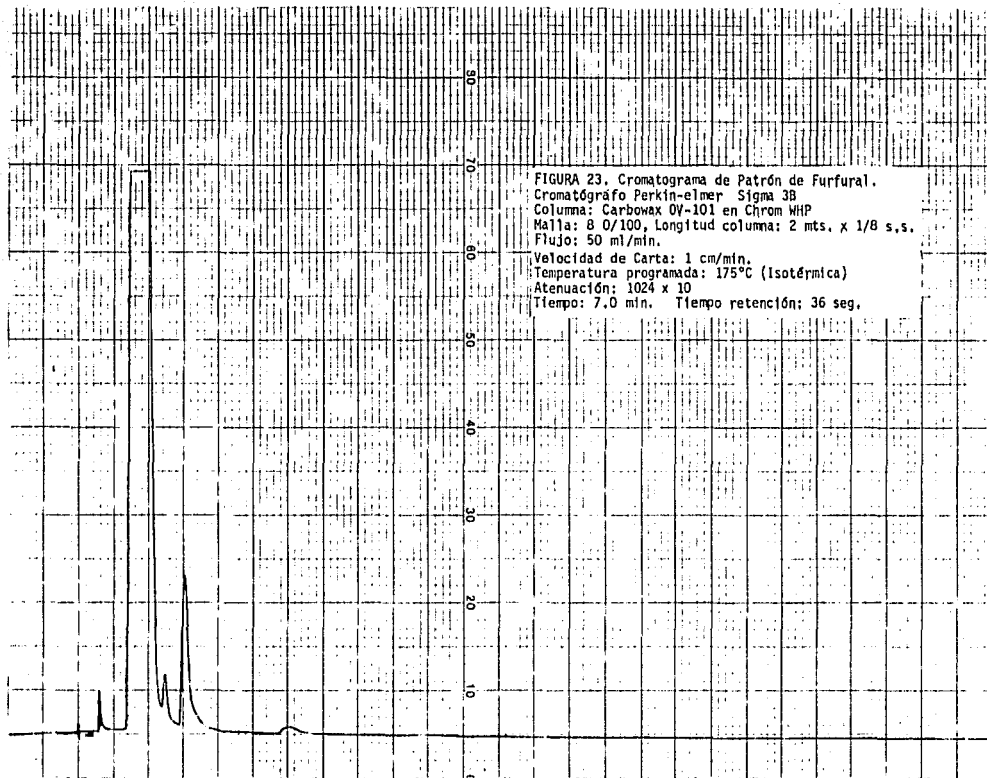


FIGURA 23. Cromatograma de Patrón de Furfural.  
Cromatógrafo Perkin-elmer Sigma 3B  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 mts. x 1/8 s.s.  
Flujo: 50 ml/min.  
Velocidad de Carta: 1 cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 7.0 min. Tiempo retención: 36 seg.

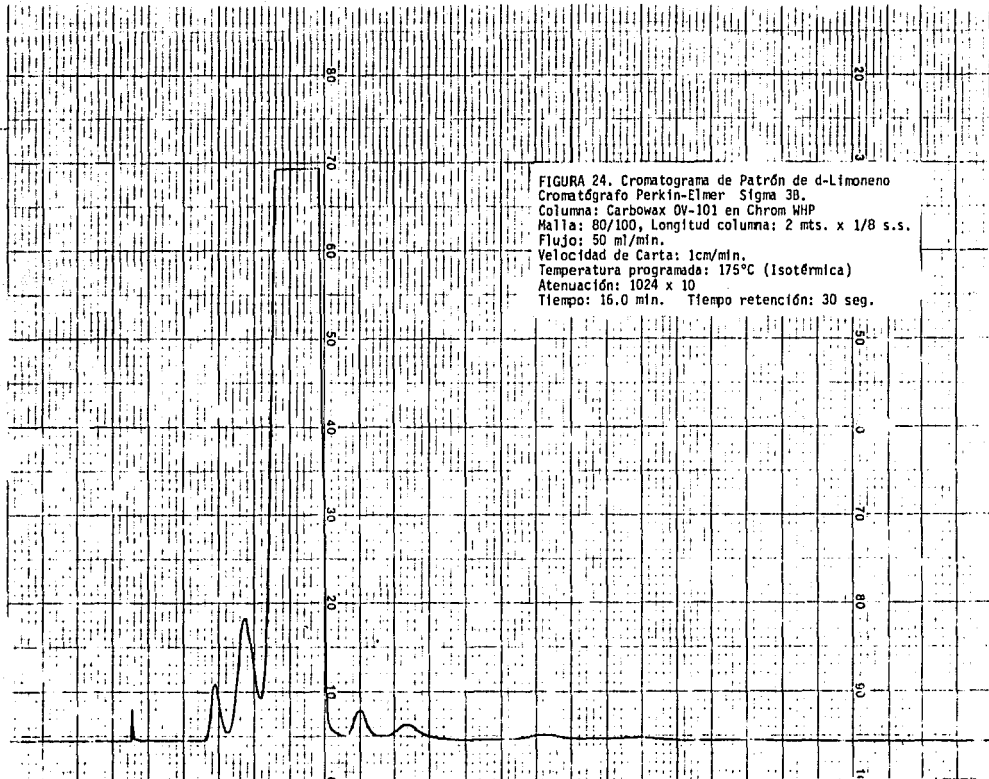
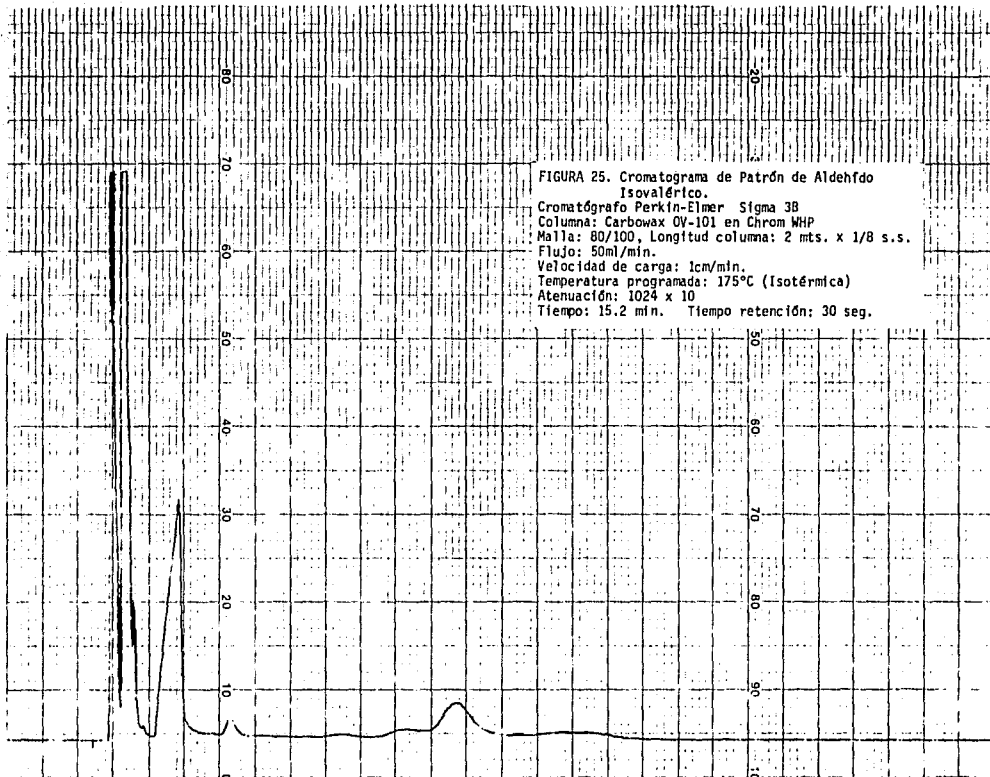


FIGURA 24. Cromatograma de Patrón de d-Limoneno  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B.  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 mts. x 1/8 s.s.  
Flujo: 50 ml/min.  
Velocidad de Carta: 1cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 16.0 min. Tiempo retención: 30 seg.



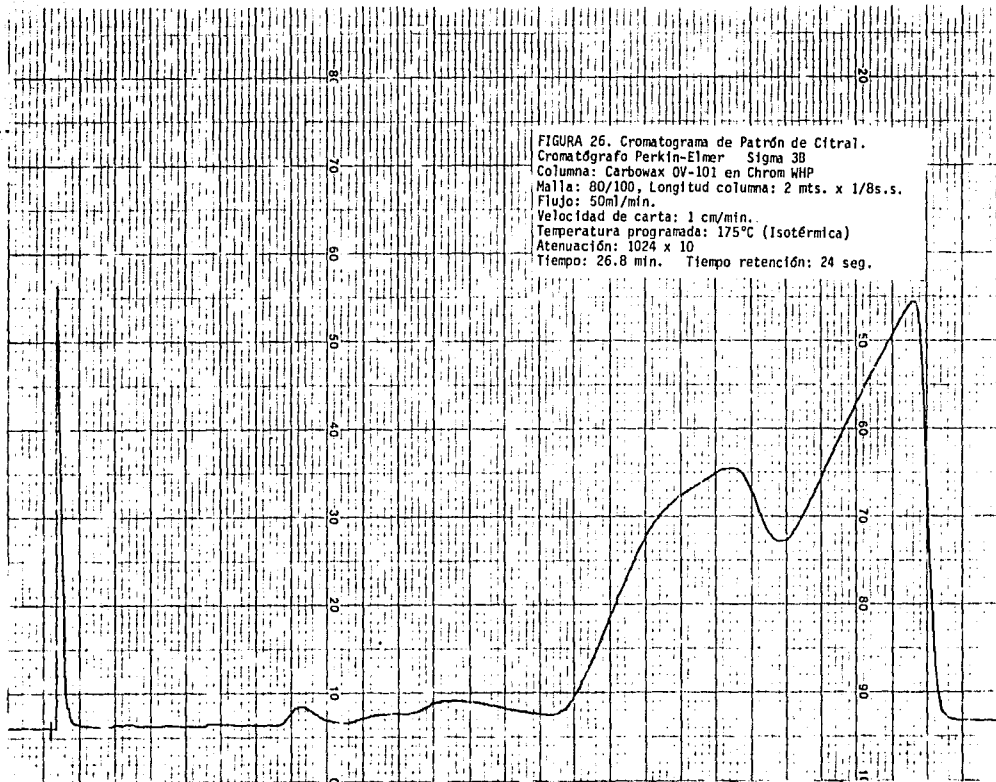
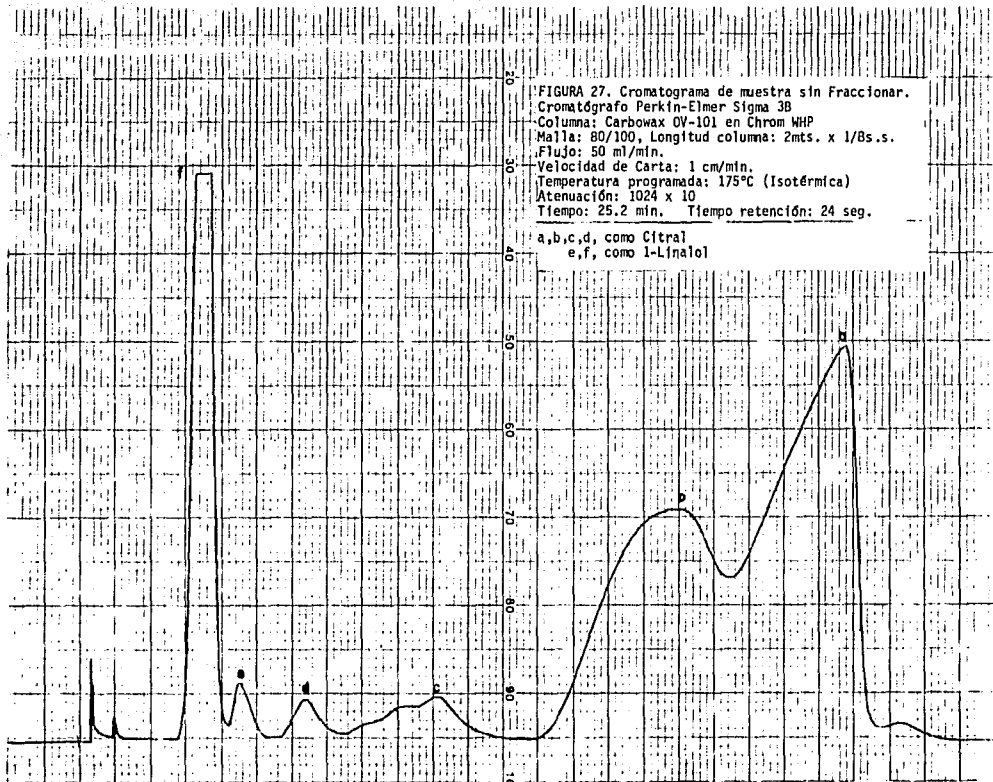
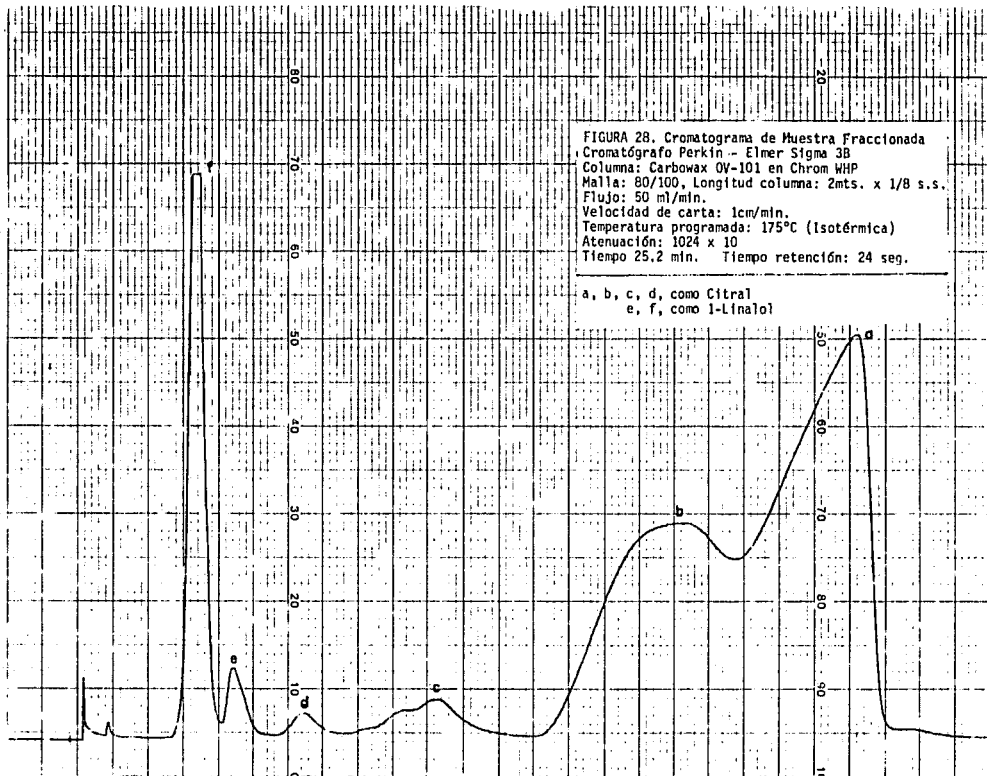
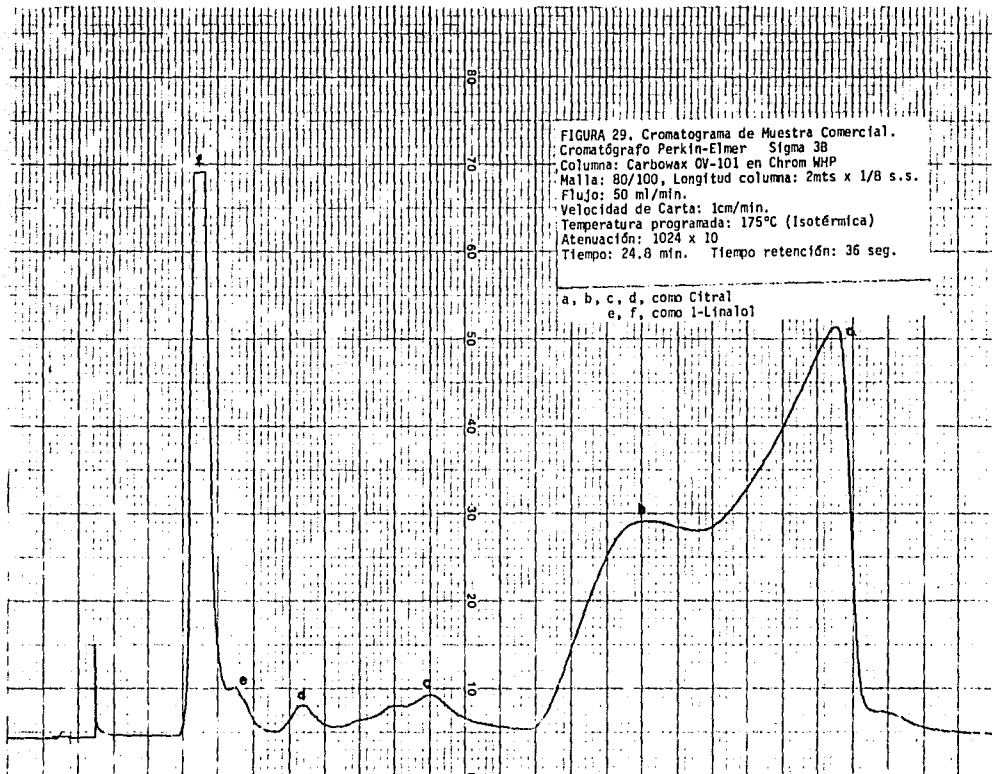


FIGURA 26. Cromatograma de Patrón de Citral.  
Cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B  
Columna: Carbowax OV-101 en Chrom WHP  
Malla: 80/100, Longitud columna: 2 mts. x 1/8s.s.  
Flujo: 50ml/min.  
Velocidad de carta: 1 cm/min.  
Temperatura programada: 175°C (Isotérmica)  
Atenuación: 1024 x 10  
Tiempo: 26.8 min. Tiempo retención: 24 seg.









CUADRO 11. ANALISIS DE CROMATOGRAMAS POR PESO EN GRAMOS.

MUESTRAS (2 $\mu$ l.)	PESO (gr.)
Patrón Nerol	0.6080
Decialdehído	0.3280
Dipentene	0.4011
1-Linalol	0.3828
Mircene	0.2658
Metilheptanona	0.2272
Citronelal	0.3820
Furfural	0.1065
d-Limoneno	0.2323
Ald. Isovalérico	0.1192
Citral	0.5578
Problema sin fraccionar	0.4162
Problema fraccionado	0.4190
Problema comercial	0.4989

CUADRO 12. PORCENTAJE DE CITRAL EN MUESTRAS

MUESTRAS (2 $\mu$ l )	PESO (gr.)	% CITRAL
Patrón Citral	0.5578	100.00
Problema sin fraccionar	0.4162	74.68
Problema fraccionado	0.4190	75.18
Problema comercial	0.4198	75.32

Se puede observar que la muestra comercial contiene un porcentaje muy similar a las otras muestras.

b) Método del Análisis por Área.

En el Cuadro 13 se presentan los resultados obtenidos por el método de Área.

En el Cuadro 14 se muestran los porcentajes de Citral presente en las muestras.

CUADRO 13. ANALISIS DE CROMATOGRAMAS POR AREA

MUESTRA (2 <sup>a</sup> )	TIEMPO (min.)	TIEMPO DE RETENCION (seg.)	AREA (cm <sup>2</sup> )
Patrón Nerol	23.8	24	65.44
Decialdehído	24.6	26	41.40
1-Linalol	25.6	30	60.66
Mircene	10.5	24	41.50
Metilheptano- na	14.8	24	38.34
Citronelal	19.0	30	29.15
Furfural	7.0	36	15.98
d-Limoneno	16.0	30	21.89
Ald. isovaléri- co.	15.2	30	15.82
Citral	26.8	24	65.69
Problema sin frac- cionar	25.2	24	62.67 ( 49.70 )*
Problema fraccionado	25.2	24	62.99 ( 49.78 )*
Problema comercial	24.8	36	63.03 ( 49.80 )*

\*Área reconocida como Citral dentro del Cromatograma.

CUADRO 14. PORCENTAJE DE CITRAL EN MUESTRAS

MUESTRA (2 $\mu$ l )	AREA (cm <sup>2</sup> )	CITRAL (%)
PATRON CITRAL	65.69	100.00
PROBLEMA SIN FRACCIONAR	49.70	75.65
PROBLEMA FRACCIONADO	49.78	75.68
PROBLEMA COMERCIAL	49.80	75.81

El valor más alto es el del aceite esencial comercial, pero en las -  
otras muestras es muy similar el porcentaje.

Comparándose los resultados obtenidos por los dos métodos, los valores son muy similares, se considera, que los resultados encontrados por el método por peso son más confiables, debido a que son más reales los datos que los encontrados por el método por Area, donde se tiene un margen de error mayor al hacer las mediciones manualmente.

El segundo componente mayoritario identificado sin problema en cromatogramas es el 1-Linalol, que se encuentra contenido en:

- Muestra sin fraccionar en 21.97%.
- Muestra fraccionada en 19.11%
- Muestra comercial en 19.09%.

En la muestra sin fraccionar se encuentra un porcentaje similar a la muestra fraccionada y la comercial, sólo en la muestra patrón de Ci-

tral no se identificó, quedando un porcentaje muy pequeño para el resto de los compuestos que no se lograron identificar.

La presencia de 1-Linalol junto con el Citral en cantidades mayores es debido a sus semejantes puntos de ebullición a la presión empleada, por lo que se requiere de excelente equipo de fraccionación. Este compuesto no afecta significativamente la calidad del aceite, pero existen otros compuestos que sí alteran la calidad, formando compuestos indeseables como el limoneno, que por oxidación originará la carvona que es tóxico, pero que no se identificó en ninguna de las muestras.

Los tiempos de retención de las muestras problema y del patrón de Citral, y de 1-Linalol son similares, con un tiempo promedio de 24 a 36 segundos e igualmente en el tiempo de elución de los componentes del aceite.

Para lograr una eficiente separación de los componentes del aceite por Cromatografía (21) se recomienda realizar Cromatografía de líquidos, que es un método analítico rápido, aplicable en alimentos, fluidos biológicos, medicamentos, sales y polímeros, siendo relativamente fácil su interpretación por dos razones:

- El aceite esencial es rico en alguna sustancia.
- El detector únicamente registrará componentes a una absorbancia de 254 mμ. En suma, porque la separación es rápida (aproximadamente 8.0 minutos o menos) y se requiere de cantidades muy pequeñas de estándares. Se puede integrar a cualquier laboratorio sin grandes esfuerzos, pero el gran inconveniente es su costo, lo que ocasiona que en la mayoría de los laboratorios e industrias posean un Cromatógrafo de Gases, que aunque no sea tan preciso ni tan específico

como el Cromatógrafo de Líquidos, da muy buenos resultados, por lo - que se puede afirmar que los resultados obtenidos en el Cromatógrafo de Gases son muy confiables para un análisis más real.

El aceite esencial fue proporcionado por Krauss de México.

## 9. DESCRIPCION DEL PERFIL SENSORIAL DEL ACEITE ESENCIAL.

- Apariencia física.

. Evaluación personal

Sabor - algo pungente, agradable, con notas que recuerdan al limón.

Aroma - Agradable, sensación de frescura, con notas que recuerdan al limón.

Color - Amarillo claro, cristalino.

La evaluación realizada por una sola persona en cuanto al sabor y aroma, no son suficientes para dar un resultado bien fundamentado. Se realizó una prueba en cuanto al aroma con diez personas sin entrenamiento, con dos muestras, la comercial y la obtenida en el laboratorio. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Se encontraron las dos muestras iguales, todos identificaron las dos muestras iguales, relacionando el aroma como agradable, que les recuerda al limón.

Referente al sabor, se elaboró una prueba más específica, con las mismas personas, para aceptar o rechazar el aceite esencial.

A las muestras, comercial (control) y la problema, se les dio una serie de claves, para llevar a cabo "La prueba triangular".

En el Cuadro 15 se muestran los resultados obtenidos por esta prueba.

CUADRO 15. PRUEBA TRIANGULAR PARA SABOR.

PANELISTAS	210	493	706	153	861	362	RESULTADOS
1	0	X	X				MAL
2	0	X	X				MAL
3	X	X	0				BIEN
4	X	0	X				BIEN
5	X	X	0				BIEN
6				X	X	0	BIEN
7				X	0	X	BIEN
8				X	0	X	BIEN
9				0	X	X	MAL
10				X	X	0	BIEN

En donde:

Muestras control: 210, 861, 362, estas tres muestras son iguales, el mismo control (comercial)

Muestras problema: 493, 706, 153, estas tres muestras son iguales, es decir, corresponden al mismo problema (obtenido experimentalmente).

Cuando el resultado es "Bien", quiere decir que la persona identificó como iguales el control y una de las muestras problema.

Lo que busca, es encontrar en este tipo de prueba, es una igualdad o diferencia de la muestra control, ya que se está calificando al aceite.

Cuando se calificó como iguales el control y el problema, se puede determinar que no existe diferencia entre ellas, mientras que si se identifican como diferentes el problema y el control, existe diferencia entre ellos; se puede afirmar, desde luego, de acuerdo al porcentaje de respuestas obtenidas, que el producto sea rechazado o no.

RESPUESTAS:

Bien: 70%

Mal: 30%.

Con lo que se puede decir que es aceptado el aceite esencial.

## 10. EVALUACION FISICOQUIMICA

En el Cuadro 16 se muestran los valores obtenidos experimentalmente comparados con los valores teóricos.



CUADRO 16. EVALUACION FISICOQUIMICA.

	TEORICO (14)	EXPERIMENTAL	RANGO
DENSIDAD 20°/20°C	0,8720 - 0.9000	0.8795	Cae dentro
INDICE DE REFRACCION 20°C	1.4830 - 1.4877	1.4845	Cae dentro
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL)	53.0 - 85.0%	74%	Cae dentro
SOLUBILIDAD EN ALCOHOL	+ 80.0%	1:2 al 80.0%	Cae dentro
ROTACION OPTICA*	- 3 a + 1		

\*No se realizó por no contarse con el equipo.

Los valores obtenidos experimentalmente caen dentro del rango teórico, - aunque se debe de considerar que algunos autores dan rangos mucho más - amplios.

Con estos resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica del aceite esencial, se cuenta con más armas para una mejor evaluación de la calidad presente, y que puede considerarse muy buena, complementándose con los resultados del perfil sensorial, los cuales también son favorables.

11. ELABORACION DE LOS PRODUCTOS PARA EVALUACION SENSORIAL.

a) Elaboración de Gomas.

<u>INGREDIENTES</u>	<u>FORMULA OPTIMA</u>
Azúcar	33.86 partes
Glucosa	30.92 partes
Agua (1+2)	30.05 partes
Grenetina	3.69 partes
Ac. Cftrico	18.92 partes
Sal	0.50 partes
Saborizante	0.06 partes
Color	0.003 partes
	<hr/>
	100.00 partes

b) Elaboración de Gelatinas

<u>INGREDIENTES</u>	<u>FORMULA OPTIMA</u>
Grenetina	2.10 partes
Azúcar	14.44 partes
Ac. Cftrico	0.11 partes
Agua	83.38 partes
Saborizante	0.010 partes
Color	0.0005 partes
	<hr/>
	100.00 partes

c) Elaboración de Refrescos.

<u>INGREDIENTES</u>	<u>FORMULA OPTIMA</u>
Azúcar refinada	20,8 (11.0° Brix)
Ac. Cítrico.	0.3 partes
Agua carbonatada	79.0 partes
Saborizante	0.36 partes
	<hr/>
	100,0 partes

Las anteriores formulaciones muestran las cantidades necesarias para obtener productos que presenten las características lo más cercanas a las formulaciones comerciales y llevar a cabo el respectivo análisis sensorial.

12. EVALUACION EN APLICACIONES DEL ACEITE ESENCIAL.

La evaluación se realizó a los diferentes productos elaborados con el aceite esencial obtenido experimentalmente, como fueron: las gomitas, gelatinas y refrescos.

Se realizó una prueba de preferencia, que es de Escore (calificación), siguiendo una escala del 1 (gusta mucho), 2 (gusta moderadamente), 3 (gusta ligeramente), 4 (ni gusta ni disgusta), 5 (disgusta ligeramente), 6 (disgusta moderadamente) y 7 (disgusta mucho).

Para cada producto a evaluar, se realizó con 15 personas escogidas al azar, sin experiencia, pertenecientes a la Facultad de Química.

Cada aplicación fue elaborada con muestras diferentes, y son:

- Aceite esencial comercial.
- Aceite esencial obtenido experimentalmente.

Estas dos muestras se compararon con productos existentes en el mercado, para gomitas marca "La Torre", para gelatinas marca "Burbuja" y para refrescos marca "Teen".

Se utilizaron estas marcas porque son similares a los productos elaborados.

El análisis efectuado a los resultados obtenidos de cada prueba fue hecho por análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Duncan.

#### 1) Evaluación de Gomitas.

La evaluación para sabor se encuentra en el Cuadro 17, para encontrar diferencia o no con las muestras, el Cuadro 18 evaluación para aroma, el Cuadro 19 para textura y el Cuadro 20 para color.

Se encontraron en tablas (18) los valores de F teórica a un nivel de confiabilidad de 5% y 1% (2.95 y 5.45 de F teórica respectivamente).

CUADRO 17. ANALISIS DE VARIANZA PARA SABOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	9.59	4.79	<u>4.79</u>
PANELISTAS	14	22.58	0.37	1.61
ERROR	28	28.09	1.00	
TOTAL	44	62.58		

Fca1. = 4.79  
Fca1 > Fteo. al 95%  
Fca1. < Fteo. al 99%

CUADRO 18. ANALISIS DE VARIANZA PARA AROMA

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	4.98	4.49	<u>1.27</u>
PANELISTAS	14	3.91	0.37	0.13
ERROR	28	54.76	1.95	
TOTAL	44	63.65		

Fcal. = 1.27

Fcal. < Fteo. al 95%

Fcal. < Fteo. al 99%

CUADRO 19. ANALISIS DE VARIANZA PARA COLOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	4.45	2.23	<u>2.84</u>
PANELISTAS	14	36.98	2.64	3.34
ERROR	28	22.22	0.79	
TOTAL	44	63.65		

Fcal. = 2.84

Fcal. < Fteo. al 95%

Fcal. < Fteo. al 99%

CUADRO 20. ANALISIS DE VARIANZA PARA COLOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	4.98	2.49	<u>1.85</u>
PANELISTAS	14	19.91	1.42	1.65
ERROR	28	37.61	1.34	
TOTAL	44	62.58		

Fcal. = 1.85

Fcal. < Fteo. al 95%

Fcal. < Fteo. al 99%

11) Evaluación para Gelatinas,

Determinación en el Cuadro 21 para sabor, Cuadro 22 para aroma, Cuadro 23 para textura y Cuadro 24 para color.

CUADRO 21. ANALISIS DE VARIANZA PARA SABOR

FUENTE DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F
MUESTRAS	2	4.13	2.06	<u>3.96</u>
PANELISTAS	14	23.13	1.19	3.44
ERROR	28	14.54	0.52	
TOTAL	44	41.80		

Fcal = 3.96

Fcal > Fteo. al 95%

Fcal < Fteo. al 99%

CUADRO 22. ANALISIS DE VARIANZA PARA AROMA

FUENTE DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F
MUESTRAS	2	2.32	1.16	<u>2.11</u>
PANELISTAS	14	18.25	1.30	2.36
ERROR	28	15.38	0.54	
TOTAL	44	35.95		

Fcal. = 2.11

Fcal < Fteo. al 95%

Fcal < Fteo. al 99%

CUADRO 23. ANALISIS DE VARIANZA PARA TEXTURA

FUENTE DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F
MUESTRAS	2	2.35	1.42	0.811
PANELISTAS	14	13.65	1.68	9.960
ERROR	28	49.15	1.75	
TOTAL	44	76.65		

Fcal. = 0.811

Fcal < Fteo. al 95%

Fcal < Fteo. al 99%

CUADRO 24. ANALISIS DE VARIANZA PARA COLOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	0.21	0.10	<u>0.08</u>
PANELISTAS	14	10.31	0.73	0.55
ERROR	28	37.12	1.32	
TOTAL	44	47.65		

Fca1. = 0.08

Fca1. < Fteo. a1 95%

Fca1. < Fteo. a1 99%

III) Evaluación para Refrescos

La determinación en el Cuadro 25 para sabor, Cuadro 26 para aroma y Cuadro 27 para color.

CUADRO 25. ANALISIS DE VARIANZA PARA SABOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	0.71	0.36	<u>0.55</u>
PANELISTAS	14	20.98	1.49	2.32
ERROR	28	17.96	0.64	
TOTAL	44	39.65		

Fca1. = 0.55

Fca1. < Fteo. a1 95%

Fca1. < Fteo. a1 99%

CUADRO 26. ANALISIS DE VARIANZA PARA AROMA

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	2.13	0.36	<u>0.60</u>
PANELISTAS	14	40.23	2.87	4.78
ERROR	28	16.85	0.60	
TOTAL	44	59.20		

Fcal. = 0.60

Fcal. < Fteo. al 95%

Fcal. < Fteo. al 99%

CUADRO 27. ANALISIS DE VARIANZA PARA COLOR

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F
MUESTRAS	2	2.85	1.06	<u>1.78</u>
PANELISTAS	14	36.45	2.87	4.78
ERROR	28	7.82	0.60	
TOTAL	44	47.12		

Fcal. = 1.78

Fcal. < Fteo. al 95%

Fcal. < Fteo. al 99%

En las evaluaciones de Análisis de Varianza para sabor en gomitas como para sabor en gelatina, ocurre que Fcal. es mayor a Fteo., a un nivel de confiabilidad de un 95%, por lo que hay una diferencia entre las muestras, por esto se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan, para localizar cuál es la muestra diferente de entre las tres a este nivel de confiabilidad.



Prueba de Rango Múltiple de Duncan

F teórica = 2.9 de 5% de confiabilidad.

a) Para sabor de gomitas

	A	B	C
Clave	564	621	358
	55	35	51
	55/15 = 3.6	35/15 = 2.33	51/15 = 3.4
	(A)	(C)	(B)
	A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>
	3.6	3.4	2.33

Estándar de error de la muestra media

$$S.E. = ( 1.00 )/15 = 0.25$$

P	2	3
rp (95%)	2.90	3.04 (tablas, 18)
Rp	0.73	0.76

Determinación de los rangos

Rango

$$a = 2$$

$$b = 3$$

$$A_1 - C_1 = 3.6 - 2.6 = 1.3 > 0.76 (R_3)$$

$$A_1 - B_1 = 3.6 - 3.4 = 0.2 < 0.73 (R_2)$$

C<sub>1</sub> es significativamente diferente de A<sub>1</sub> y B<sub>1</sub>

$$B_1 - C_1 = 3.4 - 2.3 = 1.2 > 0.73 (R_2)$$

A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>    C<sub>1</sub>

C<sub>1</sub> = B(gomitas comerciales, clave 621)

Por lo tanto, el producto de la especie  $C_1$  fue significativamente menos delicado que la de las especies  $A_1$  y  $B_1$  a un 95% de confiabilidad, por lo que la muestra de gomitas comercial es diferente a las otras muestras.

b) Para sabor de gelatinas

	A	B	C
Claves	820	176	438
	49	37	45
	$49/15 = 3.26$	$37/15 = 2.46$	$45/15 = 3.00$
	(A)	(C)	(B)
	3.26	3.0	2.46

Estándar de error en la muestra media

$$S.E. = (0.52)/15 = 0.18$$

P	2	3
rp ( 95% )	2.90	3.04 (tablas, 18)
Rp	0.52	0.54

Determinación de los rangos

$$a = 2$$

$$b = 3$$

$$A_1 - C_1 = 3.26 - 2.53 = 0.8 > 0.54 (R_3)$$

$$A_1 - B_1 = 3.26 - 3.00 = 0.26 < 0.54 (R_2)$$

$C_1$  es significativamente diferente de  $A_1$  y  $B_1$

$$B_1 - C_1 = 3.0 - 2.46 = 0.54 > 0.52 (R_2)$$

$A_1 B_1$        $C_1$

$C_1 - B$  (gelatina comercial, clave 176)

Por lo tanto, el producto de la especie  $C_1$  fue significativamente menos delicado que el de las especies  $A_1$  y  $B_1$  a un nivel de confiabilidad del 95%, por lo que la muestra comercial es diferente a las otras dos muestras a ese nivel de confiabilidad.

Al 99% de confiabilidad, en todas las muestras no existe diferencia significativa, por lo que se puede aceptar el aceite esencial para su uso en la -elaboración de productos comerciales, ya sea para estos productos o para algunos otros.

## CAPÍTULO VI CONCLUSIONES

Después de haber desarrollado el presente trabajo, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. Existe la disponibilidad de materia prima en varios Estados de la República Mexicana, dadas las condiciones climatológicas para el cultivo de Té Limón.
2. Mediante las evaluaciones físicoquímicas y sensoriales, se puede concluir que la calidad del aceite esencial de Té Limón no presenta variaciones en relación a especificaciones, lo que indica que este producto es competitivo con los materiales de importación de uso actual.
3. Se presenta la posibilidad de reducir importaciones del Aceite Esencial de Té Limón, lo que permite la factibilidad de fomentar su cultivo y procesamiento con la consiguiente apertura de fuentes de trabajo y la variación de la balanza de importaciones-exportaciones.
4. La obtención del Aceite Esencial del Té Limón para su implementación en la industria de alimentos y bebidas, representa un proyecto factible desde los puntos de vista económico, tecnológico y sensorial.

## CAPÍTULO VII

### RECOMENDACIONES

Con el fin de implementar aún más el presente trabajo, se presentan las siguientes recomendaciones:

1. Serfa conveniente favorecer el cultivo de Té Limón Limón a mayor escala en los lugares o estados que cuenten con las condiciones climáticas para su desarrollo, para su posterior aprovechamiento en la industria de saborizantes, llevando esto a cabo con una adecuada orientación.
2. En las zonas donde se tiene la ventaja de contar con el Té Limón, se pueden establecer pequeñas o medianas industrias para aprovechar este material y además de la mano de obra disponible.
3. Implementar el proceso de extracción a nivel industrial contando con un adecuado asesoramiento técnico y capacitación del personal. Esto traerá grandes beneficios.
4. Finalmente, serfa recomendable realizar un estudio de mercado para el aceite esencial obtenido en el laboratorio con respecto al aceite esencial ya existente en el mercado, y con ello poder determinar su competitividad real.

CAPÍTULO VIII  
BIBLIOGRAFÍA

1. Association of Agricultural Chemist (AOAC). Official Methods of Analysis. 1965. 9th. Washington, D.C.
2. Amos J., A. Billington E., A. Food Industries Manual. 1962. 19th. Ed. The Tower, Leonard Hill Books Limited. pp. 143-152.
3. Amerine Maynard, A., Reessler B., Edward. Principles of Sensory Evaluation of Food. 1965. Ed. Academic Press. pp. 366-374.
4. Anuario Estadístico de Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos, Banco Nacional de Comercio Exterior. 1977-1986.
5. Arctander, Steffen. Perfume and Flavor Material of Natural Origin, 1960. Ed. Unpal. Elizabeth, Nl. (USA). pp. 9-18.318-553.
6. Badui Dergal, Salvador. Química de los Alimentos. 1982. Ed. Alhambra Universidad. 1a. Reimpresión. pp. 308-310.
7. Furia E., Thomas, Bellanca, Nicolo. Feranoli's Hand Book of Flavor Ingredients. Ed. The Chemical Rubber Co. pp. 150-151.
8. Furia E., Thomas. Hand Book of Food Additives Index. 1975. Publicada por CRC Press. pp. 5-16, 16-17, 783-998.
9. Fischer J., J. Agricultural Food Chemist 1199 (1975). pp. 12-13.
10. Flavor Materials. Reference List of Flavoning in Use in The United States. 1976. Washington, D.C.
11. Gamboa Sánchez, Carlos. Las Flores en la Alimentación de México. 1978. pp. 7-21.

12. Gatchalian Miñoza, Miflora. Sensory Evaluation Methods with Statistical Analysis. 1981. Ed. College of Home Economics. University of the Philippines. pp. 14, 175, 337.
13. Green F., L. Development in Soft Drinks Technology -1. 1978. Ed. Applied Science Publishers LTD, London. pp. 7-29, 61-66.
14. Guenther, Ernest. The Essential Oils. Vol. I y IV. 1952. Ed. D. Van Nostrand Company. Third Printing. pp 3-187 (I). pp. 52-620 (IV)
15. Heath B., Henry. Source Book of Flavor. 1981. Ed. The Avi Publishing Company, Inc. Connecticut, USA. pp. 4-548.
16. Hoagland Meyer, Lillian. Food Chemistry. 1978. Ed. The Avi Publishing Company. Connecticut, USA. pp. 362-365, 600-606.
17. Jenkins L., Glenn. The Chemistry of Organic Medicinal Products. 1957. Ed. John Wiley and Sons., NY. pp. 94-95.
18. Larmond, Elizabeth. Methods for Sensory Evaluation of Food. 1970. Ed. Canadá Department of Agriculture. pp. 5-14, 36-40.
19. Lawrence B., Brian. Recent Progress in Essential Oils. Perfumer and Flavorist, Vol. 2. Nov. 1977. pp. 36.
20. Linder, Ernst. Pérez, Aurora. Toxicología de los Alimentos. 1978. Ed. Georg Thieme Verlag Stuttgart, España. pp. 72.
21. Mc Kone T., Harold. High Performance Liquid Chromatography of Essential Oils. St. Joseph College. Hartford, Conn. 06117. pp. 1-5.
22. Miller V., Erston., Latorre. Fisiología Vegetal. 1967. 1a. Ed. Ed. Centro Regional de Ayuda Técnica. pp. 12-14.
23. Miranda, F. La Vegetación en Chiapas. Parte 2. 1953. Ed. Sección Autobiográfica. Depto. de Prensa y Turismo, Tuxtla Gutiérrez, Chis. México, pp. 311.

24. Morris Boyd, Jacobs<sup>m</sup> The Chemical Analysis of Food and Food Products. Third Edition. Ed. Robert E. Krieger Publishing Co. Inc. pp. 16-23, 29-46, 600-672.
25. Norma Oficial Mexicana. México 1975. Determinación de Aldehdos en Aceites Esenciales. K-363-1972. Secretarfa de Industria y Comercio.
26. Norma Oficial Mexicana para Gelatina Preparada para Postre. (F-41-1954. CDV 668.3) NOM-F-41- 1983.
27. Norma Oficial Mexicana. México 1972. Determinación de Rotación Optica en Aceites Esenciales. F-67-1972., 535.3.
28. Norma Oficial Mexicana. México 1972. Determinación del Índice de Refracción con el Refractómetro de Abbe en Aceites Esenciales, Aceites y Grasas vegetales o animales. F-74-1972, 535.32.
29. Norma Oficial Mexicana. México 1972. Métodos de Prueba para la Determinación de la Densidad Relativa en los Aceites Esenciales y Grasas Vegetales o Animales. F-75-1972. 665/ .36 20.1.
30. Morrison, Boyd. Química Orgánica. 1981. Ed. Fondo Interamericano. pp. 564-672, 812-813.
31. Pasto J., Daniel. Johnson R., Carl. Determinación de Estructuras Orgánicas. 1977. Ed. Reverté, España. pp. 8-29.420-423.
32. Ranastad, Egil. Modern Pharmacognosy. 1959. Ed. Mc Graw Hill Book Company, Inc. pp. 159.
33. Roig y Mesa, Juan Tomás. Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas. 1974. Ed. Ciencia y Técnica. Instituto del Libro, Cuba. s/p.
34. Sánchez Tello, Guadalupe Isabel. Control de la Producción de Sabores y Esencias. 1971. UNAM., México. pp. 2353.



35. Souza Novelo, Narciso. Plantas Alimenticias y Plantas de Condimentos que viven en Yucatán. 1950. Ed. Agrícola Henequenero. Mérida, Yuc. pp. 325.
36. Shriner L., Raplh, Fuson C., Reynold. Identificación Sistemática de compuestos orgánicos. 1979. Ed. Limusa. 4a. Reimpresión. Méx. pp. 107, 181, 343.
37. Taylor J., R., Food Aditives. 1980. Ed. Wiley International. Edition John Wiley and Sons. pp. 3-49.
38. Youngken W., Heber. Tratado de Farmacognosia. 1951. Ed. Atlante S.A. pp. 207-208.
39. Zapara Ruiz, Juan. Manual Práctico de Bebidas para la Industria de Refrescos de la Revista Bebidas. 1968. Ed. Abeja. pp. 5-16, 70-83.