

300 627
6

203



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA

ANALISIS DE COMPUESTOS VOLATILES EN EL
ACEITE ESENCIAL CONCENTRADO DEL LIMON
MEXICANO "CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE"
POR CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO PARA LA
DETECCION DE DERIVADOS CUMARINICOS



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACO BIOLOGO

P R E S E N T A :

ADDY MONICA CASTRO BENDIMEZ

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INDICE.

PAG.

CAPITULO I.-

1. INTRODUCCION. LIMON MEXICANO.	1.0
1.1 Historia del Limón	1.0
1.2 Variedades del Limón	3.0
1.3 Botánica del Limón Mexicano (<i>Citrus Aurantifolia Swingle</i>)	6.0
1.4 Composición química del Limón Mexicano	8.0
1.5 Producción Mundial	9.0
1.6 Producción Nacional y zonas productoras	11.0
1.6.1 Ciclo de producción	12.0
1.6.2 Plantas Industrializadoras	15.0

CAPITULO II.-

2. ACEITE ESENCIAL DEL LIMON MEXICANO.	19.0
2.1 Generalidades del aceite esencial	19.0
2.2 Disponibilidad de la materia prima	25.0
2.3 Localización del aceite esencial	26.0
2.4 Obtención del aceite esencial "Limón Mexicano"	29.0
2.4.1. Tratamiento del fruto	29.0
2.4.2. Preparación de los diferentes tipos de aceite esencial.	31.0
2.4.2.a Aceite Esencial Destilado	32.0
2.4.2.b Aceite Esencial Centrifugado tipo "A"	35.0
2.4.2.c Aceite Esencial Centrifugado tipo "B"	36.0
2.4.2.d Aceite Esencial Concentrado	39.0
2.4.3 Conservación del Aceite Esencial	42.0
2.5 Aplicaciones del Aceite Esencial	47.0

CAPITULO III.-

3. PARTE EXPERIMENTAL	49.0
3.1 Análisis químico del Aceite Esencial	49.0
3.2 Desarrollo técnico	51.0
3.3 Determinaciones sensoriales estandares	52.0
3.3.1. Aspecto	52.0
3.3.2 Color	52.0
3.3.3 Olor	52.0
3.3.4 Sabor	52.0
3.4 Determinaciones Físicas estandares	55.0
3.4.1 Índice de refracción	55.0
3.4.2 Densidad relativa	56.0
3.4.3 Rotación óptica	56.0
3.4.4 Solubilidad en alcohol	58.0
3.4.5 residuo a la evaporación	58.0
3.5 Determinaciones Químicas estandares	59.0
3.5.1 Contenido de aldehídos	59.0
3.6 Análisis Instrumental	64.0
3.6.1 Cromatografía Gas-Líquido	64.0
3.6.1.1 Inyector	65.0
3.6.1.2 Columna	66.0
3.6.1.3 Detector	70.0

CAPITULO IV.-

4. RESULTADOS	74.0
4.1 Muestras analizadas	74.0
4.2 Hoja de análisis fisicoquímicos y sensoriales	74.0
4.2.1 Limón Mexicano Destilado	75.0
4.2.2 Limón Mexicano Centrifugado "A"	76.0
4.2.3 Limón Mexicano Centrifugado "B"	77.0

4.2.4 Limón Mexicano Destilado 2X	78.0
4.2.5 Limón Mexicano Centrifugado "A" 2X	79.0
4.2.6 Limón Mexicano Centrifugado "B" 2X	80.0
4.3 Análisis por Cromatografía Gas-líquido	81.0
4.3.1 Análisis, Detección de la "LIMETINA"	82.0

CAPITULO V.-

CONCLUSIONES	91.0
---------------------	-------------

CAPITULO VI.-

6. BIBLIOGRAFIA	95.0
------------------------	-------------

1. INTRODUCCION

1.1 HISTORIA DEL LIMON.

Parece ser que ninguna especie del grupo de los agrios fué originaria del nuevo mundo. Cristobal Colón en su segundo viaje a América en 1493, introdujo en Haití la naranja, la cidra y el limón; mientras que en Asia menor y Europa fueron introducidas por los árabes. En ésta época estas especies estaban bastante difundidas en los cultivos del viejo mundo, particularmente en España, que había tenido mucha influencia árabe.

Las semillas y las plantas traídas por Colón parece ser que provenían de las islas Canarias. La primera planta cítrica llegó al continente americano en 1518 y es en Florida donde el cultivo de los agrios adquiere por primera vez una importancia comercial. Esta región estaba ya relativamente poblada y las condiciones ecológicas favorecían el desarrollo de los frutos. Enseguida los agrios se difundieron a partir de las costas del Mar de las Antillas y del Golfo de México llegando finalmente a California. En lo que a América del Sur, se cree que las diversas especies de cítricos fueron introducidos por los portugueses, mientras que en la parte meridional del continente americano fueron las misiones jesuitas quienes contribuyeron a la difusión de los agrios (35).

La lima (*Citrus aurantifolia* Swingle) como también se le conoce al limón mexicano es probablemente originaria del Archipiélago Malayo. Como la naranja amarga y el limón verdadero, fué introducido en Europa por los árabes y en América por navegantes españoles y portugueses.

Sin embargo, el eminente especialista en aceites esenciales, el Doctor E. Guenther (16), opina que es posible que los polinesios atravesando el Pacífico lo hayan introducido en la costa Oeste de América, dicha hipótesis, explicaría la gran abundancia de limones variedad *Citrus aurantifolia* Swingle en las selvas y los espacios poco explorados de América Central y la parte norte de América del Sur, particularmente del Pacífico.

En México, el árbol del limón era conocido en estado semisilvestre en la costa del Atlántico, antes de que fuera plantado en los alrededores de Acapulco de donde eran exportados a la ciudad de San Francisco, Estados Unidos de Norteamérica alrededor de 1875 a 1910. Hasta que estalló la Revolución en México y los barcos norteamericanos dejaron de tocar Acapulco. Pero fué en 1917, cuando se normalizaron las exportaciones provocando la extensión y el inicio de plantaciones en Colima y Michoacán, desde donde los frutos eran enviados a los Estados Unidos por ferrocarril. En el período de 1928 a 1945 se extendieron tanto las plantaciones en Colima, llegando a ser el estado productor más importante del país (18).

1.2 VARIEDADES.

Botánicamente hablando, existen en México tres variedades de limón dentro del género Citrus y que pertenecen a la familia de las Rutáceas, las cuales son :

- * Citrus aurantifolia Swingle (Limón Mexicano).
- * Citrus aurantifolia Persian (Lima persa).
- * Citrus medica Lemon Limn (Limón Eureka).

El fruto del Citrus aurantifolia Swingle es el más abundante en el país, representando aproximadamente el 87% (7) de la producción total a nivel nacional, aunque el cultivo de las otras variedades de limón han venido recibiendo impulsos en los últimos años en México.

El limón mexicano o lima agria es un fruto que se cultiva en clima tropical, presentando como característica cierta redondez, tamaño pequeño o mediano, cáscara delgada de color verde intenso, tiene un fuerte aroma y una gran cantidad de jugo (2).

La variedad Citrus aurantifolia Persian o la lima persa, es un fruto de tamaño medio o grande, redondo y verde, que se cultiva cada vez más en los estados de Veracruz y Oaxaca. Proviene de injertos en patrones de limón agrio y por cambios genéticos carece de semilla. Este fruto ha tenido una excelente aceptación en el mercado nacional por su presentación y precio competitivo ante el limón común o mexicano (8).

La variedad Eureka (*Citrus medica* Lemon Limn), se cultiva también en los estados de Veracruz y Oaxaca, siendo un fruto de color amarillo, de tamaño mayor, forma ovalada, aroma débil y con escaso contenido de jugo; es un fruto muy semejante al que se cosecha en clima mediterráneo (8).

Dado el éxito que han tenido tanto el limón Persian como el Eureka en el mercado nacional interno (sobre todo este último), podría pensarse que ambos son objeto de promoción para intensificar su producción; sin embargo, su desarrollo en las principales zonas productoras del país todavía se encuentran en plan de experimentación (34). Además los citricultores no se encuentran convencidos a la aceptación en el mercado interno de estas variedades, pues saben que el aceite que se obtendría del limón no tendría las características que posee el limón común o mexicano, y aún más temen que por efectos de la polinización se pierdan las características propias del limón mexicano, debido a lo cercano de las plantaciones.

El limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) es uno de los frutos cítricos más importantes que produce México (7). Esta variedad es también conocida como lima debido a que se trata efectivamente de una lima ácida. Este fruto es muy buena fuente de aceites esenciales, de ácido ascórbico, de ácido cítrico y de pectina entre otros subproductos (36).

El limonero es un cultivo perenne que requiere de clima caliente entre 24°C a 40°C, humedad ambiental de 75-80%, suelos profundos bien drenados y de baja capa freática para que no afecte al sistema radicular del árbol (4).

En el decenio de los 40s (37) el cultivo del limonero en México se inició como actividad económica, alcanzando volúmenes comerciales de importancia. Su desarrollo se inició por decisiones de los agricultores que previeron para el fruto un futuro brillante como consecuencia de los atractivos precios que logró en el mercado internacional su principal derivado: ACEITE ESENCIAL.

Al principio las plantaciones se practicaron en forma anárquica o intercaladas con otros cultivos, en zonas con suelos y climas inadecuados, en lugares mal drenados y altamente susceptibles a plagas y enfermedades.

Si bien, todavía es común encontrar una mala asociación de cultivos, sobre todo en los estados de Pacífico sur; algunos citricultores emplean ya técnicas modernas: siembras apropiadas, mejores sistemas de riego, obras de drenaje, campañas fitosanitarias, aplicaciones de fertilizantes, etc (28).

1.3 BOTANICA DEL LIMON MEXICANO (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE)

Desde el punto de vista de clasificación botánica, el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) pertenece a la familia de las Rutáceas, al género *Citrus* y a la especie *aurantifolia* (35). Fitológicamente hablando, el limón mexicano es una lima variedad mexicana, que de acuerdo a las características botánicas del género *Citrus*, el limón mexicano presenta las siguientes propiedades:

A) Hojas dotadas de glándulas, persistentes, aparentemente simples (en realidad compuestas de hojas unifoliadas), insertadas sobre pedúnculos más o menos alados o emarginados, las alas generalmente se articulan a las hojas y al tallo.

B) Espinas por lo general presentes, nacen solitarias en las axilas de las yemas foliáceas.

C) Flores en racimos o raramente solitarias en las axilas de las hojas, ó en pequeñas cimas o panículos laterales ó terminales, blancas ó con manchas purpúreas en los botones; de 5 pétalos (raramente de 4 ó 6) gruesos, alargados en forma de cinta o correa.

D) En la base numerosos estambres, de 16 a 60, aunque generalmente de 20 a 40 (por regla general el número de estambres es cuando menos 4 veces el número de pétalos).

E) Ovario con 8 a 15 lóculos, con estilo prominente y caduco, conteniendo tantos conductos como lóculos tiene el ovario.

F) Fruto en hesperidio, globulos, oval u oblonga esferoidal; los gajos llenos de una pulpa jugosa compuesta de sacos jugosos, semillas de una a ocho en cada gajo de forma oblonga de 6.3 a 18.8 mm de largo.

G) Cotiledones carnosos y gruesos, genralmente con varios embriones que se forman a semejanza de yemas originadas del tejido nuclear de la planta.

Pero siendo el limón mexicano de la especie aurantifolia, tiene también como características: frutos ovales, a menudo con pezón pequeño, de 25 a 37.5 mm de diámetro en su eje menor, de color amarillo verdoso cuando están maduros; de cáscara delgada y lisa, flores pequeñas y hojas también pequeñas, dentadas de color verde pálido en el haz, más o menos terminadas en punta, obtusas espinas cortas y muy puntiagudas.

1.4 COMPOSICION QUIMICA DEL LIMON MEXICANO.

Considerando su composición química, se ha podido revelar el alto poder nutritivo del fruto. Cabe mencionar que la composición del limón no sólo varía de acuerdo con las variedades botánicas, sino también por las prácticas de cultivo y el estado atmosférico, el grado de maduración antes de la cosecha y las condiciones de madurez posterior, la cual es fuertemente influenciada por las condiciones de almacenaje. No obstante se pueden presentar algunas generalidades, en donde 100 gr de pulpa posee en base húmeda (18):

- 30 calorías.
- 1 g de proteína.
- 0.2 g de grasa.
- 9.2 g de carbohidratos.
- 55 mg de calcio.
- 23 mg de fósforo
- 1.48 mg de fierro.
- 0.06 mg de tiamina.
- 0.03 mg de riboflavina.
- 0.2 mg de niacina.
- 42 mg de ácido ascórbico (vit. C).
- 38 mg de ácido cítrico.

Por la acidez que presenta el limón mexicano, es entre los cítricos el fruto que presenta mayor valor en cuanto acidez y por lo tanto sus aceites esenciales y sus jugos, poseen un aroma y sabor más fuerte, debido a ésto y a sus características botánicas, el limón mexicano se le conoce como lima ácida o agria, aunque en México es normalmente conocido como limón común. En algunos países lo conocen como lima dándole diferentes denominaciones como lime, limetta, etc, pero siempre refiriéndose al mismo fruto "Citrus aurantifolia Swingle".

1.5 PRODUCCION MUNDIAL.

Hoy en día los grandes países productores de limón mexicano son: Brasil, Perú, Haití y obviamente México, que de acuerdo a cifras extraoficiales y estimados por la FAO (6), de la cantidad total nacional del cítrico limón, el mayor porcentaje lo representa la variedad Citrus aurantifolia Swingle; aunque existen otros países que también lo producen, pero en cantidades menores (TABLA 1). Esto se debe principalmente a las condiciones climáticas que gozan desde el punto de vista geográfico.

TABLA 1

PRODUCCION MUNDIAL DE LIMON MEXICANO (7)

PAIS PRODUCTOR	1986	1987	1988	1989
Africa	249 MT	399 MT	312 MT	344 MT
Egipto	67	201	120 F	150 F
Sudáfrica	43	49	46 *	52 *
Sudán	38	40	40 F	40 F
Norte América	1554 MT	1758 MT	1536 MT	1700 MT
México	577	695	603 *	603 *
Haiti	25	26 F	26 F	26 F
Cuba	27	30	48	21
Rep. Dominicana	13	14 F	14 F	14 F
Sur América	667 MT	682 MT	755 MT	750 MT
Argentina	112	154	161	170 F
Brasil	369	357	369	360
Perú	66	87	75	242
Asia	1215 MT	1317 MT	1338 MT	1240 MT
China	70 F	106 F	111 F	112 F
India	488	500 *	550 F	450 F
Turquía	284	300	318	300
Europa	1325 MT	1606 MT	1142 MT	1388 MT
Grecia	173	189	171	166 *
Italia	156	185	267	355
España	375	144	283	354
Mundial	5069 MT	5801 MT	5136 MT	5461 MT

* = cifras extraoficiales.

F = estimación FAO.

MT = tonelada métrica

1.6 PRODUCCION NACIONAL Y ZONAS PRODUCTORAS.

Actualmente, México es el principal productor de limón mexicano y de su aceite esencial, el cual proviene del fruto entero o de la raspadura de la cáscara del mismo, obteniéndose 3 diferentes tipos de aceite esencial de limón, los cuales presentan características sensoriales y composición diferentes entre sí, que son de suma importancia para la industria alimentaria y farmacéutica (4).

Muchas regiones de nuestro país poseen las condiciones adecuadas para el desarrollo de este cítrico, así su cultivo ha alcanzado importancia en diversos estados como son Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Oaxaca, Guerrero, Tamaulipas y Veracruz.

ZONAS PRODUCTORAS DE LIMON EN LA REPUBLICA MEXICANA.



■ ZONAS PRODUCTORAS

1.6.1 CICLO DE PRODUCCION NACIONAL DEL LIMON MEXICANO

En cuanto a lo que se refiere a México, a parte de su localidad geográfica es importante mencionar que la temporada de producción del limón mexicano se realiza prácticamente durante todo el año, aunque al igual que la mayoría de los frutales de ciclo largo, presenta un período de mínima, media y máxima producción.

La máxima producción ó la época de temporada se obtiene durante los meses de Mayo a Octubre, principalmente en los estados de Colima y Michoacán, ya que en los estados de Veracruz, Jalisco, Nayarit y Guerrero se desarrolla su máxima producción de Septiembre a Octubre, y en tanto que Tamaulipas la obtienen en Septiembre.

El nivel medio de producción corresponde a los meses de Noviembre a Diciembre para la mayoría de las entidades de relevancia. Aunque puede variar de entidad a entidad, siendo que el estado de Colima reporta además de los meses coincidentes, producción media en Marzo y Abril algunas veces; Michoacán en Junio, Veracruz en Julio y Agosto; Jalisco y Nayarit en Agosto; Tamaulipas en Julio y Agosto, y por último Guerrero en Agosto.

La época de producción mínima ó cuando escasea la mayor de las veces se ubica en los meses de Enero a Abril, aunque también varía dependiendo de la situación geográfica de cada estado, por ejemplo: Colima tiene una producción mínima en Diciembre; Michoacán de Diciembre a Marzo, Veracruz en Mayo y Junio, Jalisco de Mayo a Julio, Nayarit de Enero a Julio, Tamaulipas de Mayo a Junio y de Noviembre a Diciembre y para finalizar Guerrero en Julio.

El período estacional de la producción nacional de limón mexicano se representa en la siguiente tabla 2:

TABLA 2

CICLO DE PRODUCCION DEL LIMON MEXICANO

ESTADO \ MES	MES											
	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
COLIMA	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
GUERRERO	-	-	-	-			+	+	+	+	+	+
JALISCO	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
MICHOCAN	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
MAYAIT							+	+	+	+	+	+
TAMAULIPAS					-	-	+	+	+	+	-	-
VERACRUZ	-				-	-	+	+	+	+	+	+

PRODUCCION:

MAXIMA



MEDIA



MINIMA



Dicho período de producción, permite que México sea el líder productor mundial del limón mexicano, ocasionando se guarde cierta relación con otros países, exportandoles el producto mencionado. A continuación se citan (TABLA 3) los diferentes países que mantienen esta relación en mayor grado (6):

TABLA 3

País Importador de limón mexicano	Volúmen (Ton) de fruto importado	Participación (%) en el mercado
- E.U.A.	32,121,588.5	99.0952
- Japón	259,578.0	0.8008
- Francia	30,542	0.0942
- Belice	1,750	0.0054
- Canadá	1,165	0.0036
- No declarados	200	0.0006
- Rep. Fed. Alemana	43.9	0.0001

* Volúmen total de Limón Mexicano en 1983: 32,414,867.4 Ton.

- E.U.A.	32,896,719.1	98.3836
- Japón	463,275	1.3855
- Francia	71,300	0.2132
- Reino Unido @	4,777	0.0143
- Canadá	581.5	0.0017
- Países Bajos°	500	0.0015
- Rep. Fed. Alemana	50	0.0001

* Volúmen total de limón Mexicano en 1986: 33,437,202.6 Ton.

- E.U.A.	35,269,353	98.8068
- Japón	393,991	1.1038
- Francia	21,950	0.0615
- Reino Unido	4,878	0.0137
- Dinamarca	60	0.0002
- Rep. Fed. Alemana	31	0.0001

* Volúmen total de limón Mexicano en 1989: 35,690,263.0 Ton.

@ (incluye Islas Norman)

° (incluye Holanda)

1.6.2 PLANTAS INDUSTRIALIZADORAS.

Hoy en día México cuenta con 51 plantas industrializadoras de limón mexicano (23) localizadas en las principales zonas productoras de esta especie (TABLA 4). Esta ubicación satisfactoria de las plantas industrializadoras o empacadoras en todo el país permite que la disponibilidad de la materia prima y los costos de transporte de la huerta a la planta manufacturera sean bajos.

Es importante indicar que todas las plantas son miembros de la Unión Nacional de Productores de Aceite de Limón (UNPAL), que es el único organismo legalmente autorizado para canalizar todas las ventas de aceite esencial de limón mexicano (4).

Cabe mencionar, que esta disponibilidad permite que los frutos arriben al establecimiento generalmente en camión, algunas veces en vagones a granel, o bien, a veces se les transporta en sacos o en cajas, pero este sistema no es estimado por las grandes plantas manufactureras por la gran cantidad de mano de obra requerida durante la operación de descarga.

Una vez recibido los frutos, pasan a una mesa de selección para determinar los de consumo fresco y los que van a ser procesados para su industrialización. Una vez eliminados los dañados y clasificados, se almacenan en silos apropiados que pueden ser grandes recipientes de metal o madera subdivididos en compartimientos, generalmente con una capacidad igual de 3 a 4 veces la capacidad jornalera de elaboración del establecimiento.

TABLA 4

PRINCIPALES ZONAS INDUSTRIALIZADORAS DE LIMON MEXICANO

A. Estado de Colima	16	Manufacteras
Municipio: Tecomán	7	
Colima	5	
Armería	2	
Manzanillo	1	
Comala	1	
B. Estado de Michoacán	16	Manufacteras
Municipio: Apatzingán	10	
Buenavista	2	
Gabriel Zamora	2	
Francisco J. Mújica	1	
La Huacana	1	
C. Estado de Oaxaca	8	Manufacteras
Municipio: Tutepec	5	
Huazolotitlán	1	
Teotitlán del Camino	1	
Chahuities	1	
D. Estado de Guerrero	5	Manufacteras
Municipios: Acapulco	5	
E. Estado de Veracruz	2	Manufacteras
Municipio: Veracruz	1	
Paso de Ovejas	1	
F. Estado de Tamaulipas	1	Manufactera
Municipio: Llera	1	
G. Estado de Jalisco	1	Manufactera
Municipio: La Huerta	1	
H. Estado de Nayarit	1	Manufactera
Municipio: Santiago Ixcuintla	1	
I. Estado de Sinaloa	1	Manufactera
Municipio: Escuinapa	1	

Los silos o tolvas deben construirse de manera que los frutos almacenados estén suficientemente ventilados y provistos de deflectores para evitar que rueden bruscamente ó la caída de los frutos desde el punto de carga hasta el fondo del silo, y una excesiva extratificación de éstos (cuando los compartimientos están llenos), pueden ser causa de mallugaduras, sufriendo fácilmente el ataque de hongos y microorganismos. El silo debe lavarse y esterilizarse frecuentemente, sobretodo si es de madera. Se debe tener cuidado, al proyectar en la inclinación de los deflectores y del fondo, para permitir que los frutos rueden fácilmente en el momento de la descarga.

El limón mexicano también se emplea como materia prima de varios productos: aceite esencial, jugo, pectina, ácido cítrico, entre otros derivados, debe ser los más apropiados para su procesamiento (aunque son los limones que no se consumen en forma fresca); se necesita por lo tanto que los frutos hayan alcanzado un grado de maduración, estén sanos y sean de la variedad adecuada. Un fruto se considera justo al punto de maduración cuando su contenido de azúcares, sustancias aromáticas y ácidos, es tal que se hacen aceptable al gusto. Normalmente existe una relación entre lo óptimo de maduración y el contenido máximo de jugo, de azúcares y de sustancias aromáticas, mientras el contenido de ácidos, sustancias amargas llamados taninos y otros componentes es proporcionalmente inferior. En la naranja y la mandarina, el grado de maduración se expresa comercialmente como la relación de sólidos solubles-acidez, indicado generalmente con la fórmula E/A; en el caso del limón, el grado de maduración no se calcula con la fórmula anteriormente mencionada, debido a que el contenido de los

ácidos es muy superior al de azúcares, por tanto esta determinación de madurez se basa principalmente en tres parámetros:

- Color de cáscara.
- Contenido de jugo.
- Tamaño adecuado.

En general la industria procesa los frutos no aptos para la venta en estado fresco (por manchas, defectos físicos) ó el exceso de producción, asumiendo así una función de verdadera válvula de seguridad para la agricultura. Sin embargo, la creación de cultivos especializados en la producción de materia prima con destino a la industria, le aseguraría a esta última una mayor disponibilidad de frutos con características constantes e idóneas y la aliviaría del riesgo de un aprovisionamiento irregular.

Muchos factores, de hecho, influyen en las características de los frutos y por consiguiente, en la composición del jugo, como las condiciones climáticas en el momento de la cosecha, la estructura del suelo, las prácticas de cultivo, etc. Para cada especie de frutos, existen variedades que dan jugos de mejor calidad con respecto a otros y para la misma variedad hay condiciones favorables o desfavorables para su empleo. Los frutos excesivamente maduros, aquellos caídos de los árboles a consecuencia de fuertes vientos y aquellos dañados por las heladas deberán ser utilizados con mucho cuidado, de hecho, los jugos que de ellos derivan tienen un sabor amargo debido a su riqueza en glucósidos y presentan, además una actividad pectinesterásica aumentada y una notable tendencia a la formación de geles.

2. GENERALIDADES

2.1 ACEITE ESENCIAL DEL LIMON.

El conocimiento de los aceites esenciales cítricos data desde la época en la que se conocieron los frutos, por lo que es necesario remontarse al año de 1500 donde se empezaron a encontrar las primeras referencias (46) precisas de los aceites esenciales destilados de limón y de naranja mencionados por Konrad Gesner y por Jacques Besson; fué después G. B. de la Porta en su "Magia naturalis", quién describió el proceso de destilación a partir de las cáscaras desmenuzadas de los dos frutos (16).

Al mismo autor se debe también una descripción del aceite esencial obtenido por destilación de las flores de naranjo amargo, también llamado nerolí y del petit grain (aceite esencial obtenido de las ramas verdes) se desarrolló notablemente en la región de Camargo, Francia que, hasta hoy en día conserva la primacía de esta producción.

De notable interés es también la producción del petit grain en Paraguay que fué iniciado por el botánico francés Balanza en 1873, aprovechando los bosques silvestres, procedentes de las plantaciones de las misiones jesuitas.

La utilización industrial de los cítricos, considerada en su origen más antiguo tuvo su cuna es Sicilia, Italia con la extracción de los aceites esenciales del limón por el método "a la esponja". El proceso requería la separación preliminar de la cáscara de la pulpa, considerada como un producto de deshecho; solamente en un segundo período se inició el aprovechamiento industrial del jugo (entonces llamado "agro") para la preparación del citrato de calcio.

Este proceso de extracción del aceite por expresión de las cáscaras data de 1700 (24), el cual consistía en partir el fruto en mitades y separar la pulpa de la cáscara mediante un cuchillo de forma especial para el corte. Una vez libre de pulpa, la cáscara era lavada con agua de cal abundantemente, para que ésta fuera más turgente, y menos absorbente, permitiendo una extracción más completa y una recuperación del aceite más fácil; la cáscara se dejaba escurrir y secar en un cesto adecuado por 3 a 4 horas.

Transcurrido este lapso, la cáscara se comprimía varias veces, acompañado con un movimiento rotatorio, contra un sistema de esponjas naturales colocadas en un jarro al cual están aseguradas con la ayuda de un travesaño apoyado en los bordes superiores. Y por presión acompañada de torsión, las celdas que contienen el aceite eran rotas; de manera que el aceite junto con el líquido de la cáscara, pasara de la esponja al jarro, en donde permanecía un tiempo y por sus diferentes densidades se separaban en fases, que por simple decantación, la esencia se separaba de los otros líquidos y de los restos producidos en la laceración de los tejidos de la cáscara.

Fué también en Italia en 1840 (14), en donde se hizo el primer ensayo de obtención del aceite del limón, utilizando un método mecánico. Pero no fué, sino a principios del presente siglo que la producción de aceites cítricos se empezó a realizar con máquinas más ó menos automáticas, en este mismo país; mientras que en los Estados Unidos se desarrollaban investigaciones en este mismo período, obteniéndose éxitos después de algunos años más tarde que en Sicilia.

La industria del limón y sus derivados se originó en las Antillas y principalmente en las islas inglesas de Antigua y Barbados, ambas grandes productoras de azúcar. En las primeras décadas del siglo XIX, el árbol del limón era cultivado en Dominica sólo en pequeña escala, sin embargo, alrededor de 1850 se inició un cultivo más intenso en la isla de Montserrat, la cual llegó a ser con el tiempo el centro de la industria del limón, permaneciendo así hasta que fué sobrepasada por Dominica (26).

En tiempos de los barcos de vela, ningún marinero británico se hubiera aventurado en un largo crucero sin amplias provisiones de jugo de limón concentrado. Las vitaminas eran desconocidas, pero la dolorosa experiencia les había mostrado que el jugo de limón prevenía el escorbuto.

Los últimos años, marcan un desarrollo decisivo para el sector cítrico, en cuanto a la citricultura se extiende en muchas otras naciones y el monopolio siciliano de la producción de citrato de calcio, inicia su decadencia con el descubrimiento de procesos biológicos para la fabricación de ácido cítrico. Siempre había una buena demanda del exterior para el jugo de limón y el citrato de calcio, y los precios de estos productos eran tan altos que el aceite de limón destilado era un subproducto como lo definían, por lo que su venta era a bajo costo. Siendo entonces el ácido cítrico y el jugo de limón, los productos que ocupaban el comercio principal.

En México, se empezó a tener conocimientos o datos precisos sobre la industrialización del limón en 1930 (37). En aquella época había una producción de casi 6 toneladas de aceite esencial. Siendo los principales productos el aceite destilado, el citrato de calcio y el ácido cítrico. En 1933 México, proveía alrededor del 12% del consumo de aceite del limón de los Estados Unidos, ya desde aquellos años Estados Unidos era el principal mercado de México. Esta participación fué cobrando importancia hasta que México llegó a ser, el principal proveedor del aceite esencial de Estados Unidos y del mundo.

Según el Ing. Salvador Sánchez los subproductos que se producían en mayor o menor escala eran: jugo de limón natural y concentrado, cáscara de limón garapiñada, aceite esencial y ácido cítrico. Hasta 1940, la industrialización del limón mexicano se canalizaba a la obtención de subproductos que anteriormente se mencionaron. El jugo obtenido se destinaba completamente al mercado interno, no se exportaba debido a que no existían empresas que lo envasaran adecuadamente, a pesar de que este producto tenía buena aceptación en los Estados Unidos, siendo entonces Gran Bretaña y las Antillas quienes se lo importaban. El aceite esencial se destinaba fundamentalmente y totalmente al mercado exterior; dentro de este mercado, era Estados Unidos el principal comprador así que la demanda interna se cubría con importaciones de aceite esencial a precio mucho más bajo, pero también de menor calidad; la cáscara garapiñada se producía en una menor escala; y por último el ácido cítrico obtenido a partir del jugo de limón se destinaba solamente al mercado interno debido a que los Estados Unidos y otros países empezaban a obtenerlo a partir del azúcar de

caña y de remolacha como materia prima, lo que tuvo bastante éxito provocando que este método desplazara al obtención de ácido cítrico a partir del jugo de limón. Debido a lo anteriormente mencionado, y a la demanda de éste ácido en el mercado interior, su consumo era mayor que la producción, por lo que había necesidad de cubrir lo faltante con importación.

Un factor que ayudó a la popularización del uso del aceite esencial destilado del limón fué su bajo precio, al ser obtenido como subproducto del jugo del limón y del ácido cítrico. El mercado del jugo clarificado y preservado con SO_2 , es ahora un mercado estable, pero reducido a países de habla inglesa y principalmente para la elaboración de cordiales. De manera, que cuando la obtención de ácido cítrico a partir del jugo de limón fué desplazada por la síntesis de azúcares, aumentó la demanda del aceite esencial destilado (principalmente por la expansión de los refrescos de sabor cola). Fué este último el que llegó a ser el producto principal y por consiguiente el precio se elevó demasiado al tener que soportar todo el costo de producción mientras que iba desapareciendo la demanda de jugo para ácido cítrico cada vez más. El alto precio, a su vez ayudó a que no se extendiera su empleo a otros campos.

Además en México, la mayoría del aceite esencial destilado es obtenido por el proceso que consiste en destilar toda la emulsión jugo-aceite, de manera que el único producto obtenido es el aceite esencial, ya que el jugo una vez hervido no tiene valor como alimento, y la extracción de ácido cítrico se hace solo en pequeña escala en Tecomán, Colima y el precio que se paga por el jugo "cocido", es insignificante (20).

Alrededor de 1960, se empezaron a construir fábricas en México que aprovecharan más racionalmente este cítrico. Pero su desarrollo ha sido lento y la situación no ha cambiado mucho; en lo que respecta a los diferentes tipos de aceite esencial de limón obtenido, el destilado representa alrededor del 90% del total, mientras que los centrifugados tipos "A" y "B", corresponden alrededor de 9% y 1% respectivamente (23).

Aunque, un proceso ideal consistiría en preparar además del aceite esencial, el jugo, el ácido cítrico, el citrato de calcio, la pectina, los bioflavonoides, el aceite de semilla, cáscara en salmuera o confitadas, melazas, alimentos para ganado, entre otros productos. Sin embargo, la producción depende de las características del fruto y de la oportunidad del mercado.

En México y América del Sur, aún es usual extraer el aceite en la plantación misma, sin someter el fruto a ninguna otra forma de explotación. La tendencia general se orienta hacia una explotación del fruto cada vez más racional, y en poco tiempo tal necesidad será evidente. Pero podemos afirmar que actualmente la industria mexicana del limón está en su momento de transición, hacia un aprovechamiento más íntegro del fruto, utilizando una tecnología más moderna. Aunque esta transición será lenta, pues los productos nuevos tienen un mercado reducido pero con grandes posibilidades de desarrollo, ya que a pesar del precio del aceite esencial, una industria moderna no puede prosperar si los procesos tecnológicos sobre los que se basa no proveen un aprovechamiento integral del fruto.

Actualmente se están obteniendo tres diferentes tipos de aceite esencial de limón, los cuales difieren entre sí, en aroma, sabor y composición. Estos tres tipos son (19):

1. Aceite esencial destilado.
2. Aceite esencial centrifugado tipo "A".
3. Aceite esencial centrifugado tipo "B".

Una vez mencionadas las generalidades del aceite esencial se considera al aceite esencial según la Norma Oficial Mexicana (32) como la sustancia volátil únicamente, que es obtenida por un proceso físico, de material vegetal oleroso y/o sápidas, y del que generalmente lleva el nombre.

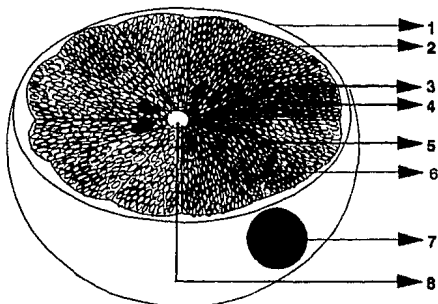
2.2 DISPONIBILIDAD DE MATERIA PRIMA.

La fuente principal de la materia prima (aceite esencial) para la industria cítrica está representada por lo que en México se conoce como "Limón común o Mexicano" var. *Citrus aurantifolia* Swingle, el cual es un fruto de un tamaño anormal o con la cáscara maltratada y que no puede ser conservada en estado fresco.

La cantidad de limón mexicano está determinada por el equilibrio entre la producción y las necesidades del mercado de fruta fresca. A causa de la irregularidad en el abastecimiento es prácticamente imposible de ajustar una fábrica a un programa de producción diaria. Por el contrario, el diseño de la fábrica debe prevenir que la planta sea apta para un aprovechamiento óptimo de la materia prima, tomando en cuenta las condiciones del mercado, la exportación, los fenómenos atmosféricos, etc. Las posibilidades de funcionamiento deben ser lo suficientemente elásticas para adaptarse a una marcha irregular.

2.3 LOCALIZACION DEL ACEITE.

Si examinamos la sección transversal de un fruto, empezando por la parte externa se observa que está constituido por tres partes principalmente: Epicarpio, Mesocarpio, Endocarpio; en donde comúnmente al epicarpio y mesocarpio en conjunto se le denomina cáscara o corteza.



1. Epidermis
2. Epicarpio (Flavedo)
3. Mesocarpio (Alvedo)
4. Endocarpio (Membrana)
5. Semillas
6. Celdas de jugo (Gajos)
7. Celdas de Aceite
8. Eje central.

A continuación se citan descriptivamente las partes del limón:

A) Epidermis.

Tejido aislante primario de constitución cerosa, que envuelve totalmente el cuerpo del fruto, protege contra la pérdida excesiva de agua, a la vez que permite el intercambio de ciertas sustancias. Consta de un solo estrato de células planas y poligonales unidas entre sí impregnadas de cutina sustancia que contribuye a la impermeabilización junto con otras ceras.

B) Epicarpio.

Es la parte coloreada también conocida como flavedo, constituido de un sistema parenquimatoso, rico en pigmentos (cloroplastos y cromoplastos) y las celdas conteniendo el aceite esencial, estas celdas se encuentran dentro de los estratos inmediatamente debajo de la epidermis, distribuidas irregularmente.

Las celdas tienen un diámetro aproximado de 0.4 a 0.6 mm, no tienen paredes propias de tipo corriente, sino están limitadas por restos degradados de elementos celulares. Además, no presentan comunicación alguna con los tejidos que los rodean más si están circundadas por células, las cuáles contienen una solución acuosa rica en sales, azúcares y coloides, que ejercen una cierta presión sobre las celdas, así que el aceite está sometido a una presión de turgencia pronunciada que aumenta cuando la cáscara está en contacto con agua, lo que se debe al fenómeno de ósmosis, que permite la tendencia a entrar en las células el agua que contiene sales.

C) Mesocarpio.

También llamado alvedo, tejido parenquimatoso que forma parte de la fracción interna de la cáscara, de aspecto esponjoso y color blanco, con grandes espacios intercelulares llenos de aire, formado de células de forma irregular principalmente de celulosa, carbohidratos, sustancias pécticas y flavonoides.

D) Endocarpio.

Es la parte comestible del cítrico constituido de segmentos o gajos distribuidos alrededor de un eje central de la misma composición del alvedo. Los segmentos están envueltos en una sutil membrana, en el interior se encuentran las celdillas fusiformes conteniendo el jugo de sutilísimas paredes.

E) Semillas.

Parte del fruto capaz de germinar, situadas alrededor el eje central, dentro del endocarpio. Órgano diseminante que se forma a partir del primordio seminal (corpúsculo generalmente ovoide que nace sobre la placenta y que está destinado a transformarse en semilla). Contiene un embrión en estado de vida latente, una cubierta y un tejido nutritivo más o menos desarrollado.

2.4 OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMON MEXICANO.

Para la extracción del aceite esencial de limón mexicano, se emplean en México, tres procesos diferentes, los cuales dan como resultado tres calidades de aceite diferentes. Todos los procesos deben contemplar la rotura de las celdillas de aceite con objeto de liberar este, y posteriormente separarlo de las impurezas que presenta debido al método de obtención.

El proceso de obtención industrial de los cítrico se puede dividir en tres partes:

2.4.1. Tratamiento de la fruta.

Selección del fruto.- Los frutos recibidos se pasan a una mesa de selección para eliminar aquellos frutos inadecuados para el proceso de industrialización por estar dañados, inmaduros o alterados de algún modo, de manera que no puedan consumirse en forma fresca, pero que sean aptos de industrializarse.

Almacenaje.- Debido a que la recepción de la fruta no es programable, es necesario contar con silos, en donde guardar el limón con objeto de dar una alimentación constante al equipo, para mantener la producción y no tener mermas.

La mejor manera de almacenar el limón es en las cajas de campo o en tolvas provistas de mamparas que ayuden, a evitar que los limones de estratos inferiores sufran grandes presiones.

Inspección. - Antes de su utilización y después de que salen del silo, se hace una nueva selección de los frutos que van a la industria, con objeto de eliminar aquellos que presenten descomposición, evitando la contaminación y por consiguiente el abatimiento de la calidad de los productos obtenidos. La selección es una operación muy importante para asegurar la bondad del producto terminado.

Lavado. - Después de la selección, los frutos son enviados al lavado y cepillado, pues frecuentemente presentan tierra, microorganismos perjudiciales, cualquier traza de plaguicidas y suciedad. Por tanto, el lavado se hace generalmente con una solución jabonosa o detergente (usualmente borax) y/o con adición de un fungicida (cloro a la concentración de 10 ppm).

Las máquinas lavadoras varían en diseño, en las cuales el lavado se logra por medio de chorros de agua y con la ayuda de cepillos de cerdas blandas para evitar la ruptura de las celdillas de aceite esencial durante el lavado. Los frutos, así preparados están listos para las fases posteriores de elaboración.

2.4.2. Preparación de los diferentes productos.

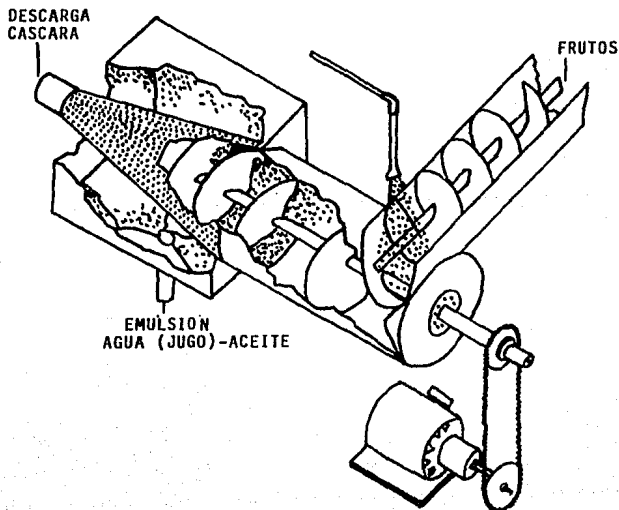
Extracción del aceite esencial.- Los procedimientos de extracción que se utilizan son diferentes, en relación al sistema adoptado en cada planta industrial, si bien sustancialmente han permanecido invariables los principios sobre los cuales se basa. Cada uno de los sistemas presentan ventajas y desventajas en la economía del proceso de elaboración, y en general, la selección se hace en base a las convicciones personales sobre la eficacia de las diversas máquinas, al rendimiento y a la calidad de los productos terminados obtenibles pero también está ligado a la cantidad de fruta procesada en cada temporada, y al grado de automatización que se quiere dar a la planta.

El aceite ejerce una presión apreciable sobre las paredes de las celdas, en las cuales está contenido y tiende a salir con fuerza cada vez que la pared de estas se rompe: cuanto más turgente está el fruto, más fácil y completa es la extracción del aceite. Si no macera, ni se prensa la corteza, no se podrá extraer la esencia con facilidad, ni siquiera por medios tan enérgicos como la destilación. Estas celdas deben romperse mediante el desmenuzamiento perfecto o trituración de los tejidos que contienen la esencia.

Cabe mencionar, que todos los sistemas de extracción se basan en principio de la ruptura o laceración de las paredes de las celdas de aceite y en el aprovechamiento de la presión natural que ejerce el aceite en el interior de estas paredes. Los siguientes métodos se mencionan a continuación, así como sus respectivos productos obtenidos:

2.4.2.A. Aceite Esencial Destilado.

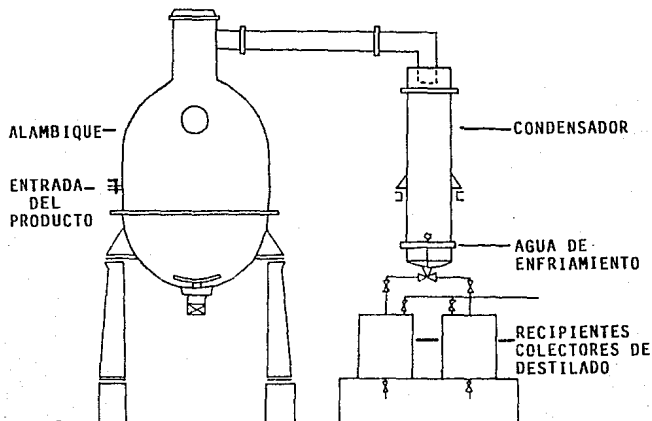
Los limones enteros, una vez seleccionados para su industrialización, son lavados y enviados a una prensa de tornillo, la cual está construida de acero inoxidable y bronce. Estas prensas están dotadas con dos gusanos helicoidales con cantos redondeados y perfil cónico que giran en sentido opuesto, estos gusanos se encuentran encerrados en una camisa adecuada provista de fisuras calibradas (Fig. 1).



PRENSA DE TORNILLO (FIG. 1)

Por tanto, por efectos de la presión ejercida de la prensa, las celdas de aceite esencial de limón se rompen expulsando el aceite, el cual es arrastrado por el jugo de los frutos, a través de las perforaciones de la camisa de la prensa, saliendo ambos en forma de emulsión. La cáscara casi exenta de jugo y aceite, sale por el extremo de la prensa; y la emulsión formada jugo-aceite es enviada a los alambiques en donde el aceite es destilado por arrastre de vapor.

El aparato más usado actualmente para la destilación, está construido de acero inoxidable, y consta de tres partes fundamentalmente: caldera, condensador y separador de condensados. Estos alambiques, tienen fondo hemisférico y domo cilíndrico, se encuentra también un anillo unido a la línea de distribución de vapor (Fig. 2).



DESTILADOR POR ARRASTRE DE VAPOR (FIG. 2)

Durante la destilación, los vapores de agua y aceite, que salen por la parte superior del alambique se envían al condensador (refrigerante de serpentín ó de haz de tubos, enfriados por agua), que al ponerse en contacto con las paredes frías del condensador se concentran y salen por la parte inferior de líquidos, y la emulsión agua-aceite resultante se pasa a un vaso florentino, en donde se separan por decantación, o bien, mediante el separador de condensados, el cual consta de dos grandes cilindros de vidrio provistos de válvulas de alivio y de conexión en la parte superior.

De acuerdo a la gravedad se separan en dos estratos por sus densidades diferentes. Saliendo por la parte superior el aceite y por la inferior el agua. El aceite esencial obtenido se filtra si es necesario, para eliminar cualquier turbidez que se presente, posteriormente se envasa en tambores galvanizados y de esta manera está listo para su venta.

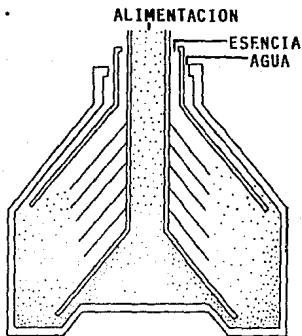
El aceite destilado es incoloro, tiene un peso específico más bajo que el del aceite extraído con máquina, rotación óptica más elevada, más bajo contenido de aldehídos y prácticamente no tiene residuo a la evaporación.

También las características organolépticas son netamente diferentes e inferiores con respecto al aceite extraído en frío. Sin embargo, si la destilación se ha llevado a cabo correctamente (temperatura baja, producto de partida no alterada, entre otros factores) se puede obtener un aceite de buena calidad.

2.4.2.B. Aceite Esencial Centrifugado Tipo " A " (por prensado).

Los limones una vez lavados se pasan a través de una prensa de tornillo, de manera que se exprimen, como en el caso del aceite destilado (Fig. 1). La emulsión jugo-aceite obtenido se pasa a través de un tamiz para eliminar los detritos, después se envía a una centrifuga en donde aprovechando la diferencia de densidades entre el jugo y el aceite, se separan. Esta separación puede hacerse en uno o dos pasos, aunque casi siempre la operación se realiza en dos fases sucesivas. En la primera, el prensado es leve, para evitar que junto con el aceite sean extraídas grandes cantidades de otros líquidos contenidos en la cáscara.

La emulsión obtenida se separa por centrifugación, mientras las cáscaras residuales, pasan generalmente por simple caída a otra prensa, en donde se realiza una extracción más enérgica permitiendo una extracción mucho más completa (Fig. 3).



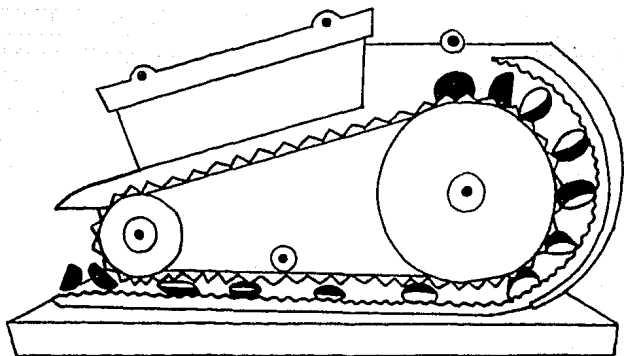
TAMBOR DE UNA CENTRIFUGA A DISCOS (FIG. 3)

Generalmente el aceite es extraído en esta segunda operación no se recupera por centrifugación sino por destilación por arrastre de vapor. El aceite ya separado se envasa en tambores galvanizados.

En las prensas, durante la extracción se puede introducir un chorro de agua, con objeto de mejorar el rendimiento ya que los tejidos que circundan las celdas del mesocarpio son esponjosos y tienden a absorber los líquidos con gran rapidez, así como a dispersarse en el aire durante la extracción a causa de su volatibilidad, por lo que se requieren fuertes asperciones de agua cuya función es exclusivamente la captación y el transporte mecánico del aceite esencial.

2.4.2.C Aceite Esencial Centrifugado Tipo " B " (por raspado).

Los limones enteros, una vez lavados se envían a un extractor de aceite el cuál realiza una abrasión, o bien, picado de la epidermis del fruto, mediante una máquina raspadora del tipo "Pelatrice Speciale" en donde son raspados bajo una aspersión de agua; esta máquina está constituida fundamentalmente por un largo tunel, con sección casi cilíndrica en la parte inferior del cuál están dispuestos rodillos provistos de puntas abrasivas que giran cada una sobre su propio eje hacia el exterior. Un gusano también provisto de puntas abrasivas, provoca el avance de los frutos desde el punto de alimentación hasta el punto de la descarga, rompiendo las celdas de aceite y provocando la salida de éste (fig. 4).



MAQUINA RASPADORA DE FRUTOS "PELATRICE SPECIALE" (FIG. 4)

La máquina es de acero inoxidable en todas las partes que están en contacto con los frutos y con la emulsión, puede tener de seis a ocho rodillos abrasivos. La raspadora Speciale es una máquina de gran simplicidad mecánica y operativa, que no requiere de mano de obra y puede tratar cítricos de cualquier especie, tamaño y forma. No son necesarios ni la calibración ni el lavado preliminar de los frutos.

La tolva de alimentación está provisto de una "copa" que dosifica automáticamente la cantidad de frutos en la entrada de la máquina. La velocidad de rotación del gusano y de los rodillos es regulable en relación a las condiciones y a las características del producto a tratar (variedad, grado de maduración y de frescura de los frutos, dureza y espesor de la cáscara, etc).

Durante el tiempo que toma a los frutos atrevesar de un extremo a otro la raspadora, una aspersion abundante de agua arrastra el aceite y los detritos de fruta producidos durante la extracción, pasando después esta mezcla de agua-aceite y detritos por un támara o un filtro rotativo, para eliminar la mayoría de las partículas sólidas producidas de la abrasión del epicarpio de los cítricos, y finalmente la emulsión agua-aceite es separada por centrifugación de dos fases: En la primera centrifugación se elimina una gran cantidad de agua y la emulsión rica en aceite se envía a una segunda centrifugación, en donde se separa el agua restante del aceite.

Una vez separado los aceites centrifugados es necesario someterlos a un tratamiento para eliminar las ceras naturales que originalmente recubrían al fruto y que en el momento de la extracción fueron disueltas por el aceite. Estas ceras si no son eliminadas, causan problemas en el uso del aceite, pues pueden precipitar dañando el aspecto del producto en que se encuentra el aceite como en refrescos.

El tratamiento consiste en someter el aceite por un período de 10 a 15 días a una temperatura de unos -20°C para lograr la precipitación de la mayoría de las "ceras".

Una vez precipitadas éstas se eliminan por centrifugación o filtración. El aceite queda listo para

2.4.2.D. Aceite Esencial Concentrado.

Estos aceites se obtienen por destilación fraccionada al vacío de los aceites esenciales extraídos en frío. En relación con la duración de la destilación y al modo en que se lleva a cabo se pueden obtener aceites más o menos libres de constituyentes terpénicos. Se obtienen así los aceites concentrados 3, 4, 5 veces hasta llegar a los aceites desterpenados.

Del aceite desterpenado por ulterior destilación efectuada en condiciones un tanto diferentes con respecto a las usadas para la simple desterpenación, se obtiene los aceites desesquiterpenados, esto es, privados de los componentes terpénicos. así como de los componentes sesquiterpénicos.

La desterpenación se lleva a cabo en un destilador (fig 5) apropiado constituido por:

- a) Un alambique de bola provisto de doble fondo para el calentamiento.
- b) Una columna de alta rectificación, rellena con anillos o con una fila de discos perforados diversamente, en cuya extremidad superior se encuentra colocado un dispositivo de reflujo con enfriamiento por agua.
- c) Un condensador formado por un refrigerante de serpentín enfriado por agua.
- d) Dos colectores para la recolección y separación de las fracciones terpénicas destiladas.

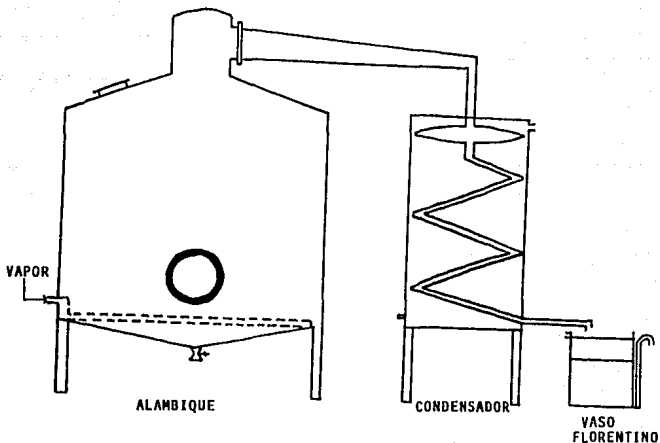


DIAGRAMA DE UN DESTILADOR (FIG . 5)

La destilación debe realizarse a un vacío elevado (inferior a 15 mm) y continuar hasta que no se tiene más destilado. Esto significa que en la olla solo permanezcan los constituyentes que no lograron atravesar la columna de rectificación. Se trata de compuestos oxigenados, de sustancias cerosas y pigmentadas, pequeñas trazas de terpenos y sustancias sesquiterpénicas; estos se recogen y se trasvasan a otro destilador parecido al primero pero más pequeño y prácticamente sin columna de rectificación.

También en este aparato la destilación se realiza al alto vacío. Cuando la destilación se realiza con dificultad se inyecta vapor vivo en el alambique para completar la separación de los componentes volátiles, mientras permanecen en la olla los constituyentes cerosos no volátiles.

Destilan así, aceite y agua que son separados en el colector. La destilación continúa hasta que sólo pasa agua. Esta segunda destilación puede ser efectuada en el mismo aparato utilizado para la primera, si se le ha preparado convenientemente.

Una tercera fase del proceso lleva a la concentración final deseada. Por lo tanto, el destilado de la segunda operación, después de haber sido separado cuidadosamente del agua, se somete a destilación al alto vacío teniendo cuidado de controlar continuamente la operación hasta obtener el producto deseado.

El control se realiza sometiendo el destilado a varios análisis químicos y principalmente a la prueba de solubilidad en alcohol. Un modo más simple de operar consiste en recoger separadamente partes iguales del destilado y sobre ello efectuar los controles analíticos necesarios.

En relación a los resultados de los análisis se reúnen las fracciones que tienen características afines y responden a los requisitos establecidos.

El método descrito es uno de los más empleados para la producción de aceites concentrados. Pero debe señalarse que casi cada producto tiene un sistema propio, sugerido por la propia experiencia personal y por las innovaciones

adoptadas para conciliar el doble fin de simplificar las operaciones y obtener los productos deseados.

Otro sistema de preparación de aceites concentrados, desterpenados y desesquiterpenados aprovechan las propiedades que tienen algunos disolventes de diluir los componentes oxigenados, ceras, pigmentos, etc, y dejar sin disolver los constituyentes hidrocarbonados; los disolventes más comunes son los alcoholes metílico, etílico, isopropílico y el pentano, usados individualmente o en mezcla, empleado el sistema de extracción en contracorriente.

2.4.3. Conservación y almacenaje.

Para la conservación y almacenaje del aceite esencial de limón es necesario tomar en cuenta los siguientes factores:

- 1.Reactividad del aceite esencial con el material de construcción del recipiente.
- 2.Influencia de la humedad.
- 3.Influencia de la luz.
- 4.Influencia de la temperatura.
- 5.Influencia del oxígeno atmosférico.
- 6.Procesos de alteración por envejecimiento.

Debido a que los aceites esenciales se alteran fácilmente como consecuencia de reacciones químicas provocadas o catalizadas por el oxígeno atmosférico, la luz, el calor, trazas de humedad y la acción de algunos metales, en particular el cobre y el hierro. Por lo tanto es necesario que se les almacene en condiciones idóneas para asegurar una conservación prolongada de las características organolépticas y analíticas que determinan el valor comercial.

A) Empleo de recipientes de acero inoxidable: Esta es la condición más importante ya que la más frecuente reactividad del aceite esencial es con el hierro, por lo que debe descartarse los recipientes de este material. El cobre puro y el aluminio no son del todo inatacables. El estaño y el zinc, por el contrario son inatacables, por lo que se les usa como recubrimiento para el fierro y el cobre (hojalata, galvanizado, etc).

Ultimamente se ha estado usando un sistema que ha dado óptimos resultados. Consiste en recubrir internamente los recipientes con un barniz o base de materiales plásticos (casi constituidos por resinas fenólicas modificadas) y sometidos posteriormente a un tratamiento térmico. Es lógico que el vidrio sea el material ideal para la fabricación de recipientes para el aceite. Sin embargo, presenta problemas por su fragilidad y peso lo que obliga al empleo de costosos embalajes.

Los tapones de corcho son ideales desde el punto de vista de la inalterabilidad y hermeticidad. También se usan las tapas de polietileno protegidas por una capa metálica. En el caso de tapones metálicos se usan juntas de polietileno. El hule no es recomendable.

B) Ausencia casi absoluta de agua en el aceite esencial: Debido a que la humedad (agua residual de la destilación o de recipientes mal secados) tiene algunas influencias nocivas. Por un lado, si la esencia está contenida en recipientes estañados o zincados, la humedad pasa a través de los más minúsculos poros del recubrimiento provocando la formación de óxidos, los que pueden dar coloración al aceite y atacar al recipiente. Además el agua puede provocar alteraciones en la constitución del aceite esencial, por la formación de productos de hidrólisis.

Por consiguiente, es recomendable eliminar casi completamente el agua presente, deshidratando al máximo al aceite esencial antes de almacenarlo, y lógicamente entregarlos al comercio en recipientes perfectamente secos mediante una decantación perfecta, deshidratación por absorción con sulfato de sodio anhidro ó equivalente, filtración, entre otros métodos.

C) Evitar el rayo de luz directa: La luz puede catalizar toda una serie de reacciones internas que se pueden verificar entre los diferentes constituyentes de los aceites esenciales. Por lo anteriormente mencionado, es recomendable que se conserven en la obscuridad. Tal condición se cumple idealmente con el empleo de vidrio fuertemente coloreado en amarillo, azul ó verde, que absorben al máximo las radiaciones luminosas. Es por consiguiente, conveniente no dejar que la luz directa del sol incida sobre los frascos por períodos excesivos.

D) Almacenamiento a temperatura vecina a 0 °C: Aquí es válido lo que se dijo con respecto a la luz. Independientemente del tipo de calentamiento, la temperatura puede provocar resinificaciones, ruptura de ésteres, ocasionando que durante el almacenamiento, los aceites tiendan a separarse y depositarse en el fondo productos insolubles de materia cerosa, que pueden ser eliminados por centrifugación. La precipitación se facilita con las bajas temperaturas.

Un sistema más simple para eliminar el material ceroso consiste en emplear recipientes más altos que anchos, con fondo cónico y provistos de tres o más válvulas colocadas a diversas alturas.

Después de la separación espontánea de las ceras, el aceite se saca por la válvula más alta y sucesivamente por las otras hasta llegar al estrato ceroso que se recoge a parte y se separa por centrifugación. La válvula del fondo, además de servir para vaciar completamente el recipiente, puede ser para eliminar las pequeñas fracciones de agua que durante el almacenamiento pueden separarse del aceite.

Como ya se sabe el aceite esencial tiene un gran valor comercial y cada pérdida de sus constituyentes, es un daño para la industria. Uno de los incidentes más frecuentes es la salida del aceite de los recipientes completamente llenos cuando, por cualquier causa, la temperatura de la cámara frigorífica aumenta y en consecuencia, aumenta el volumen del aceite. En general, una temperatura entre los 5-15 °C representa el rango óptimo de las condiciones ambientales.

E) Llenado completo de los recipientes para evitar el contacto del aceite con el aire: Debido a que el oxígeno contenido en el aire reacciona con los aceites esenciales, provocando oxidaciones más o menos evidentes según la estabilidad de sus constituyentes. Entonces, para disminuir el contacto del aceite con el aire, es conveniente llenar los recipientes al máximo posible, si esto no es factible, es aconsejable introducir en éstos un gas inerte (N_2 ó mejor anhídrido carbónico).

El anhídrido carbónico se puede introducir en los recipientes en forma de gas o de manera más simple, en forma de hielo seco; tomando en cuenta la formación de vapores por eventuales cambios térmicos, dejando un espacio libre de 2% al 5% del volumen del recipiente como lo recomienda la Norma

Oficial Mexicana, esto es de suma importancia cuando se trata de un aceite fácilmente oxidable.

El empleo de antioxidantes puede ser útil en ciertos casos, pero siempre es decisiva la concomitancia de todos los factores activos para una buena conservación y es recomendable que tiempos de almacenamientos sean cortos.

F) Evitar los procesos de alteración por envejecimiento: Los aceites esenciales, con respecto al envejecimiento, se comportan como los vinos. Existen aquellos que si se conservan en condiciones ambientales adecuadas mejoran su aroma con el tiempo, existen otros que por lo contrario, aún cuando se conservan perfectamente, a lo largo se alteran hasta quedar inservibles, tal es el caso de los aceites esenciales cítricos. Esto se debe lógicamente, a la naturaleza y a la reactividad de los componentes. Es entonces, aconsejable un rápido manejo del aceite.

Debido a los tres diferentes procesos empleados, los productos obtenidos son diferentes también. Esto se debe, principalmente a que la composición química del aceite cambia mucho por la acción del ácido y la temperatura, así tenemos que el aceite destilado presenta un aroma y sabor muy diferentes al del limón natural, pero al que el público se ha acostumbrado con el tiempo.

El aceite centrifugado tipo "A", tiene un aroma y sabor que recuerdan al jugo de limón. Debido a que los cambios en su composición han sido pequeños, pues no se le ha sometido a ningún calentamiento y el tiempo de contacto con el jugo ha sido corto. Mientras que el centrifugado tipo "B", tiene un aroma y sabor que recuerdan a la cáscara del limón.

Los cambios en su composición han sido mínimos, pues no ha tenido ningún contacto con el jugo, ni se le ha sometido a ningún calentamiento. Sólo hay un ligero descenso en el contenido de compuestos oxigenados, debido a la parcial solubilidad de éstos en agua.

2.5. APLICACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DEL LIMÓN MEXICANO

Los tres tipos de aceite esencial (destilado, centrifugado tipo "A" y tipo "B", se utilizan como materia prima para la obtención de diversos productos que a su vez se utilizan en la elaboración de otros (36) como en:

- Bebidas no alcohólicas	57.0 ‰
- Galletas	17.0 ‰
- Pastelería	15.0 ‰
- Extractos aromáticos	5.0 ‰
- Perfumes y cosméticos	3.0 ‰
- Productos farmacéuticos	2.0 ‰
- Otros	1.0 ‰

Pero dependiendo del aroma que se desea dar y las características del producto en el que se van aplicar, va a ser el aceite que se va a utilizar, es decir, el aceite esencial de limón mexicano destilado se usa en la industria alimenticia y farmacéutica como es para la elaboración de los concentrados para refrescos embotellados con sabor a cola, de lima-limón. del tipo ginger-ale. También se utiliza en la elaboración de saborizantes para dulces, gelatinas y esencias para repostería, medicamentos y en la elaboración

de aditivos que impregnan aromas a lociones, perfumes aunque en menos extensión.

El aceite esencial centrifugado tipo "B", como posee un aroma muy agradable y fresco, empieza a usarse en la fabricación de fragancias para aguas de colonia, pero todavía no bien definido, debido posiblemente a los efectos fotosensibles de los derivados cumarínicos; también se utiliza en la elaboración de saborizantes para dulces, gelatinas, helados y esencias que se utilizan en la industria repostera.

En muchos países se ha industrializado casi todas las partes del limón, pero en México, sólo se obtienen a nivel comercial, a parte del aceite esencial en sus tres tipos, jugo simple, jugo concentrado, cáscara seca y fresca, citrato de calcio y ácido cítrico.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 ANALISIS QUIMICO DE UN ACEITE ESENCIAL.

Examinando la composición de los aceites se ha visto que son mezclas complejas de compuestos químicos. Según las últimas investigaciones, se considera que estos aceites poseen alrededor de 350 componentes distintos (26). Estos componentes se encuentran clasificados en tres grupos:

- A) Compuestos oxigenados.
- B) Compuestos hidrocarbonados.
- C) Residuo no volátil.

COMPUESTOS OXIGENADOS. Están constituidos principalmente por derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres) de los terpenos y sesquiterpenos. Y es a estos compuestos a quién se les debe la mayor parte del aroma característico del aceite esencial, constituyen el bouquet de cualquier esencia.

COMPUESTOS HIDROCARBONADOS. Están constituidos por los usualmente llamados terpenos y sesquiterpenos, componen del 50 al 95% (39) de los aceites esenciales cítricos (aproximadamente 80% en el aceite de LIMON MEXICANO). A diferencia, de los componentes oxigenados, los componentes hidrocarbonados influyen poco en el aroma y tienen el inconveniente de ser poco estables provocando notables alteraciones en el aceite esencial. Pero aunque su aportación al aroma del aceite no es muy grande, no deja de tener importancia pues contribuye a la formación de la nota de salida fresca de los aceites cítricos.

RESIDUO NO VOLATIL. Principalmente constituido por cumarinas, ceras de naturaleza parafinica y ácidos grasos. También son sustancias comunmentes consideradas como lastre sin utilidad olfativa, sin embargo, aún cuando enturbian al aceite y llegan a precipitar, actuan como fijadores naturales, contribuyendo al aroma de fondo del aceite y poseen dentro de su composición sustancias que actúan como antioxidante.

Una vez mencionado la composición química del aceite esencial, cabe indicar que es de fundamental importancia el control analítico de un aceite esencial en toda la industria cítrica, con el fin de determinar los principales cambios que ocurren dentro de su composición, después de la extracción, debido a que es sometido a cambios muy bruscos.

Los métodos utilizados para el control del producto tienen como característica la rapidez y la simplicidad de ejecución, de manera que permite la obtención de resultados lo más rápido posible, siendo posible detectar un error y actuar a tiempo para evitar un dato en el producto final.

Dentro de este control analítico, existen parámetros cualitativos y cuantitativos que permiten calificar las propiedades fisicoquímicos de un aceite esencial. Pero hoy en día se tiene como herramienta fundamental el análisis instrumental (cualquier tipo de cromatografía, espectrofotometría, entre otros), para mayor precisión y rapidez, detectando al mismo tiempo la calidad y cantidad de cada componente en el aceite.

3.2 DESARROLLO TECNICO.

En este trabajo se analizaron las propiedades físicas y químicas de los aceites esenciales con las determinaciones que a continuación se citarán. Las determinaciones realizadas se hicieron por triplicado para verificar la calidad del aceite.

Se tomaron muestras de 200 gramos de cada uno de los aceites esenciales a analizar, manteniendose en botellas color ambar de 250 ml para su mejor conservación. Dichos aceites fueron producidos y extraídos en el estado de Colima, México. Las determinaciones realizadas fueron las siguientes.:

- A) Sensoriales: Aspecto
 Color
 Sabor
 Olor

- B) Físicas: Índice de refracción
 Densidad relativa
 Rotación óptica
 Solubilidad en alcohol
 Residuo a la evaporación

- C) Químicas: Contenido de aldehidos

- D) Análisis instrumental: Cromatografía Gas-Líquido

Puesto que el contenido relativo de los distintos componentes de los aceites esenciales es un índice de calidad, por ser estos de origen natural, la concentración de cada uno de ellos está sujeta a variaciones originadas por diversas causas (temporada de cosecha, clima, fruta, etc). Debido a esto, es necesario establecer ciertos límites que abarquen dichas fluctuaciones y para lo cual es útil las determinaciones anteriormente mencionadas.

Estas determinaciones son más que nada utilizadas para indicar cambios en la composición del aceite esencial debido a envejecimiento, adulteraciones, procesos defectuosos o bien para detectar compuestos específicos que pueden ser posibles compuestos tóxicos.

3.3 DETERMINACIONES SENSORIALES.

Dentro de estas determinaciones se tomó unicamente una muestra de 10 gramos de cada uno de los aceites a evaluar, la cual sirvió para llevar a cabo los 4 analisis sensoriales correspondientes. Recopilación de las determinaciones sensoriales estandares dadas por la Norma Oficial Mexicana "DGN-F-62-1987"(31), en el cuadro número 1.

3.3.1.ASPECTO.- Se determinó visualmente, observando si el líquido presenta alguna turbidez, sólidos precipitados, agua, etc. El aceite que fué obtenido por el método de destilación, debe ser cristalino, no debe presentar ningún tipo de opalescencia; una ligera turbidez puede indicar presencia de agua. Mientras que los aceites centrifugados deben ser también cristalinos, pero a diferencia del anterior, puede presentar un precipitado ceroso debido a la precipitación de los derivados cumarínicos y ceras, los cuales son componentes normales del aceite.

3.3.2.COLOR.- Se determina visualmente. El aceite destilado debe presentar un color ligeramente amarillento. Una muestra casi incolora, nos indica un aceite rico en terpenos o un color amarillo intenso puede indicar contaminación por metales, o bién un aceite quemado.

El aceite centrifugado tipo B, debe presentar un color verde oscuro debido a que proviene de la raspadura de la cáscara de limón.

3.3.3.OLOR.- Es una de las determinaciones más importantes, puesto que a esta característica se le debe el valor comercial del aceite. Se determina mediante un grupo de personas experimentadas en el ramo. Una vez conocido el olor típico del aceite, cualquier olor extraño nos puede dar ideas de su causa (olor ácido , rancio, etc.).

3.3.4.SABOR.- Es la otra determinación importante del aceite; Análisis determinado de la misma manera que para el olor, cualquier sabor extraño nos dá idea de su causa.

DETERMINACIONES SENSORIALES ESTANDARES (31).
CUADRO NUM . 1

DETERMINACIONES SENSORIALES	DESTILADO TIPO "A"	CENTRIFUGADO TIPO "B"	CENTRIFUGADO
ASPECTO	Ligeramente cristalino precipitado	Líquido cristalino puede presentar un ceroso	Líquido cristalino puede presentar un precipitado ceroso
COLOR	Ligeramente	De ambar a verde amarillo	Verde oscuro
OLOR	Fresco terpénico algo frutal de tipo cítrico	Fresco, picante frutal tipo cítrico que recuerda el jugo de limón	Fresco, frutal del tipo cítrico con nota herbácea que recuerda a cáscara de limón
SABOR	Característico libre de sabores extraños	Característico libre de sabores extraños	característico libre de sabores extraños

REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-F-62-1987"

3.4 DETERMINACIONES FISICAS.

Recapitulación de las determinaciones físicas de acuerdo a la legislación dada por la Norma Oficial Mexicana "DGN-F-62-1987" en el cuadro número 2 (31).

3.4.1. INDICE DE REFRACCION.- Para esta determinación se empleó un refractómetro de Abbe provisto de filtro rojo para anular la irisdiscencia en el límite de separación entre los dos campos de luz y facilitar la lectura. Se trabajó con el primer décimo de una muestra recogida de la destilación de 40 ml. de aceite esencial, la cual es colocada sobre una placa de vidrio especial.

Este análisis está dado por la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el de refracción de un rayo luminoso que pasa del aire al aceite en cuestión, a una temperatura de 20°C. Si la medición se hace a temperaturas diferentes se deben realizar las correcciones necesarias. El valor leído a temperaturas diferentes se corrige con 0.0005 por cada grado de diferencia con 20°C. Tal factor es único para todos los aceites esenciales de cítricos. (30).

Este instrumento utiliza luz blanca, pero es recomendable, aunque no es necesario realizar la determinación empleando la luz amarilla de sodio, la finalidad es evitar que aparezca un límite borroso y colorido entre los campos iluminado y oscuro, debido a las diferencias en los índices de refracción para luz de diferentes longitudes de onda.

Esta propiedad cambia muy lentamente con la variación de la calidad del aceite. Generalmente un valor alto corresponde a un aceite muy pesado (contenido alto de residuo no volátil).

3.4.2.DENSIDAD RELATIVA.- Esta determinación se llevó a cabo en un picnómetro tarado. La determinación está basada en la relación entre el peso de un volumen de 50 ml de aceite a 25 °C y un volumen igual de agua a la misma temperatura. En caso de que la temperatura difiera de los 25°C se harán las correcciones necesarias, es decir se empleará el factor de corrección de 0.00057 (30). Si el aceite destilado presenta una densidad relativa baja indica un aceite rico en terpenos (aceite ligero), debido generalmente a una destilación incompleta ó a una mezcla en la fracciones obtenidas de la destilación. Una densidad relativa alta nos indica una destilación muy prolongada, la utilización de limones muy maduros o un aceite muy viejo.

Es muy raro encontrar aceites centrifugados con densidad relativa baja, si ésto se presenta es muy probable que haya adulteración con otros productos. Una densidad relativa alta puede tener como causa la presencia de gran cantidad de residuo no volátil.

3.4.3.ROTACION OPTICA.- El análisis polarimétrico ha dado una contribución adicional a la formación de opiniones sobre la calidad de los aceites esenciales o sobre el tipo de fruto empleado para la extracción, lo que ayuda a indicar si el fruto está maduro ó inmaduro, o bien sobre determinados casos de adulteración. Ya que esta determinación se fundamenta en la rotación del plano de vibración de la luz polarizada, que es girado por el aceite esencial del cítrico, cuando un haz de luz polarizada pasa a través del aceite.

El método utilizado se realiza de la siguiente manera: en un matraz se coloca 40 ml de la muestra, se lleva a cabo una destilación, recogiendo en una probeta graduada 1/10 del aceite inicial, sobre el cual se determina la rotación óptica. Las lecturas se realizaron con luz blanca de tungsteno, en tubos polarimétricos de 50 mm, aunque se tuvo el cuidado de corregir, el valor leído a la medida de 100 mm.

La rotación óptica de los aceites esenciales de cítricos es influenciada por la temperatura y por tal razón se refiere siempre a 20°C. Si la medición se hace a temperaturas diferentes se deben realizar las correcciones necesarias sumando y restando, a la rotación óptica leída, por cada grado por arriba o por abajo de 20°C, el factor de corrección es 0.1003 para el tubo de 100 mm. El resultado de la rotación óptica se expresa en grados angulares.

Los componentes hidrocarbonados tienen valores altos de rotación óptica (arriba de +50), mientras que los componentes oxigenados tienen valores bajos o negativos. Cuando un aceite esencial destilado tiene una rotación óptica alta, indica que es un aceite rico en terpenos, debido generalmente a una destilación incompleta, o una mezcla defectuosa de las fracciones obtenidas de la destilación, mientras que una rotación óptica baja indica una destilación prolongada, es decir un aceite desterpenado o desesquiterpenado, o bien la utilización de limones muy maduros. Por otro lado, es muy raro encontrar aceites centrifugados con rotación óptica alta o baja, si esto se presenta es posible que exista algún tipo de adulteración.

3.4.4.SOLUBILIDAD EN ALCOHOL.- Es una prueba importante, que puede contribuir a revelar una eventual oxidación ó algún caso de adulteración. La composición química de lo aceites esenciales cítricos pueden ser más o menos solubles en alcohol etílico. La temperatura a la cual se determina la solubilidad en etanol es de 20°C, utilizando etanol al 95 %.

Para la determinación se emplearonn probetas graduadas de 10 ml con tapón esmerilado y alcohol etílico de diversas graduaciones, comprendidas entre 60° y 90° (46). En una probeta graduada de 10 ml se introdujo 1 ml del aceite y a pequeñas porciones, el alcohol etílico al 90° agitando de vez en vez, hasta que se obtuvo una disolución límpida. La determinación se efectuó a 20°C . El resultado se expresa indicando la relación aceite/alcohol empleada y la graduación de éste.

Los terpenos son menos solubles que los componentes oxigenados, por lo tanto un aceite rico en terpenos será menos soluble que lo normal, entonces en el caso de los aceites esenciales concentrados nos indica el grado de concentración.

3.4.5.RESIDUO A LA EVAPORACION.- Se basa en la cantidad de componentes que no se evaporan al someter el aceite a un proceso de calentamiento controlado. La determinación se lleva acabo empleando 5 gramos de muestra colocados en una cápsula de porcelana de fondo redondo, se hace evaporar en baño maría en un tiempo de 6 horas. El resultado se expresa en gramos por ciento.

Esta determinación es útil ya sea para tener una indicación del sistema de extracción del aceite, o bien para reconocer eventuales adulteraciones. Un aceite destilado que tenga un residuo a la evaporación alto puede indicar envejecimiento (formación de polimeros) mientras que si es demasiado bajo puede indicar adulteración con terpenos. Siempre es conveniente oler el aroma del aceite durante la evaporación.

Un aceite centrifugado con un residuo a la evaporación alto puede indicar exceso de ceras (posible defecto en la fabricación, adición de parafinas, vaselina, etc) por lo que es recomendable percibir el aroma del aceite durante la evaporación. Mientras que uno bajo, indica que el aceite ha sido descerado, o bien adición de terpenos u otros adulterantes.

3.5 DETERMINACIONES QUIMICAS.

Resumen de las determinaciones químicas de acuerdo a la legislación dada por la Norma Oficial Mexicana "DGN-F-62-1987" en el cuadro número 2 (31) analizadas en este trabajo.

3.5.1. CONTENIDO DE ALDEHIDOS.- Dentro de los compuestos oxigenados se atribuye a los compuestos carbonílicos la mayor importancia en el aroma del aceite de limón. Entre todos los aldehídos presentes en los aceites cítricos, tiene una gran importancia el CITRAL.

Los aceites esenciales cítricos contienen diferentes cantidades y calidades de aldehídos, según el fruto del cual se obtuvieron, del método de extracción empleado y la época de recolección de los frutos. Así, el citral predomina en los aceites de limón, lima y cidra, de ahí que el contenido de citral sea un factor importante en la calidad de limón, tanto que el valor comercial del aceite de limón se establece aún, en base al contenido de este compuesto principalmente.

El método que se describe a continuación es el más aplicado y éste se base en la propiedad del clorhidrato de hidroxilamina de reaccionar con los aldehídos liberando estequiométricamente ácido clorhídrico el cual se titula más tarde con KOH al 0.5 N en alcohol de 60 ° debido a que la cantidad de aldehídos presente es muy pequeño.

En una probeta de 50 ml. con tapón esmerilado se introdujeron 10 ml de muestra, 7 ml de disolución de hidroxilamina y 2 gotas de indicador. Se agita fuertemente y se valoró con potasa, agregándola en pequeñas porciones y agitando enérgicamente después de cada adición. La valoración se termina cuando después de agitar por un minuto aproximadamente y reposar por tres minutos, el estrato inferior de la solución permanece amarillo. La reacción hacia el final es lenta pero puede considerarse completa en 15 minutos.

Una vez obtenido el vire, se agregan otros 0.5 ml de KOH y se agita. Esta muestra sirve como testigo. Se repitió la titulación sobre otra alícuota de muestra, ésta se termina cuando el color del estrato inferior es igual al que ha alcanzado la prueba testigo.

El contenido de aldehídos de 100 gramos de muestra se calcula con la fórmula siguiente (46):

$$\% \text{ aldehídos} = \frac{n \cdot m \cdot 1.008 \cdot 100}{P}$$

En donde: n = ml de KOH 0.5 N empleados.

m = equivalente del aldehído (para el aceite de limón se toma 0.076).

1.008 = Factor de corrección.

P = Peso de la muestra.

Las principales causas por la que se presenta un contenido bajo de compuestos carbonílicos, son defectos en la fabricación ó utilización de limones muy maduros. Si el contenido es alto, es posible que el aceite haya sido adulterado con citral.

DETERMINACIONES FISICOQUIMICAS ESTANDARES (31).
CUADRO NUM . 2

DETERMINACIONES FISICOQUIMICAS	DESTILADO	CENTRIFUGADO TIPO "A"	CENTRIFUGADO TIPO "B"
ROTACION OPTICA A 20°C	+34 a -45	+35 a +41	*
INDICE DE REFRACCION A 20°C	1.474 - 1.477	1.482 - 1.488	1.484 - 1.489
DENSIDAD RELATIVA A 20°C	0.855 - 0.863	0.872 - 0.881	0.877 - 0.885
CONTENIDO DE ALDEHIDO (CITRAL)	0.5 - 2.0 %	4.5 - 8.5 %	5.0 - 9.5 %
RESIDUO A LA EVAPORACION	0.2 - 2.0 %	10.0 - 14.5 %	13.0 - 19.0 %
SOLUBILIDAD EN ALCOHOL	SOL. EN 0.5-5.0 VOL. DE ETANOL 90%	SOL. EN 0.1-0.5 VOL. DE ETANOL 90%	SOL. EN 0.1-0.05 VOL. DE ETANOL 90%

* El color intenso del aceite esencial de limón centrifugado tipo "B" no permite esta determinación.

REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-F-62-1987"

Los métodos físicos y químicos anteriormente citados no son suficientes para establecer la calidad ó pureza de un aceite esencial, y por tanto por muchos años se les ha complementado con el examen organoléptico, sobre todo el olfativo. Este examen sólo puede tener una sola validez, si lo efectúan expertos particularmente dotados; no obstante, no es ni puede ser considerado un ensayo objetivo ni reproducible.

Tal hecho, unido a los desarrollos y a los progresos conseguidos por la química analítica y a la necesidad de detectar casos de adulteración cada vez más refinados y confirmar la presencia de compuestos químicos de gran interés (en este caso de los derivados cumarínicos), ha llevado a la implementación de métodos cada vez más sofisticados que requieren el uso de equipos especiales tales como: Espectro-fotómetro, Cromatógrafo de cualquier tipo, entre otros más.

Estos tipos de análisis modernos y perfeccionados han dado una contribución fundamental acerca del conocimiento de la composición de los aceites esenciales, y por consiguiente, la posibilidad de verificar su pureza y su calidad en un tiempo muy corto.

3.6 ANALISIS INSTRUMENTAL.

El análisis instrumental comprende el análisis espectrofotométrico y el análisis cromatográfico. De acuerdo al interés por la detección de los derivados cumarínicos, sólo se mencionará al análisis cromatográfico gas-líquido.

El principio de separación en cromatografía de gases consiste en la distribución de una muestra entre dos fases. La primera de estas fases es llamada fase estacionaria y consiste de un soporte de gran superficie de contacto, la otra fase es un gas (fase móvil o acarreador) el cual pasa a través de la fase estacionaria.

La cromatografía de gases (CG), es una técnica para separar componentes volátiles mediante el paso de una corriente de gas, sobre una fase estacionaria. Si la fase estacionaria es un sólido hablamos de Cromatografía gas-sólido (CGS). Si la fase estacionaria es un líquido, la llamamos gas-líquido (CGL). El líquido es distribuido como una película fina sobre un sólido inerte y el mecanismo de separación entonces será la distribución de la muestra dentro y fuera de esta película.

3.6.1 CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO.- Se basa en la separación de los constituyentes de un aceite esencial, de acuerdo a la compatibilidad que presente el componente con la fase estacionaria y la preparación de cromatogramas útiles para establecer, a través de la posición y del área de los picos obtenidos, ya sea la naturaleza o bien la cantidad de cada constituyente.

En esta técnica se analizan muestras líquidas en cantidades pequeñas (0.5-2.0 l) ya que se desea la más alta eficiencia posible, donde los componentes volátiles del aceite son separados a lo largo de una columna que contiene una fase estacionaria (generalmente un aceite pesado), depositada sobre un soporte sólido.

En el cromatógrafo de gases (FIG 7) existen tres zonas calentadas, las cuales están separadas: el puerto de inyección, el horno de la columna y el detector, y son calentados para ajustar la volatilidad de los componentes que pasan a través de ellos. Estas tres zonas deben fijarse a temperaturas apropiadas para que funcione correctamente. Dichas temperaturas dependen primordialmente en los puntos de ebullición de los componentes de la muestra.

3.6.1.1 Inyector:

El puerto de inyector consta de una jeringa en el rango de microlitros y una pequeña membrana llamada septum, a través del cual la jeringa es insertada para depositar la muestra exactamente donde el empaque de la columna empieza. Su temperatura deberá fijarse por lo menos a la temperatura del punto de ebullición del componente menos volátil, aunque se recomienda establecerla 20 grados centígrados arriba del punto de ebullición de dicho componente.

El aceite esencial se introduce en el inicio de la columna con una microjeringa, a través de una membrana de cierre, en ese momento se vaporiza y es arrastrada por el gas de acarreo a través de la columna, en donde los componentes viajan a diferentes velocidades dependiendo de su solubilidad en la fase estacionaria.

3.6.1.2 Columna:

La columna es el corazón del cromatógrafo y es donde se efectuó la separación de los componentes de una muestra. En consecuencia, el éxito o el fracaso de una separación en particular, dependerá en gran medida de la elección de la columna adecuada. En cromatografía de gases existen columnas de dos tipos: Empacadas y capilares.

Las columnas capilares son tubos abiertos de diámetros internos pequeños con una película delgada de fase líquida. Las columnas empacadas consisten de un sólido inerte, el cual es recubierto con una pequeña capa de un líquido no volátil.

Dentro de las columnas empacadas, en un inicio de la cromatografía de gases se empleó tubo de cobre y aluminio en las columnas. Estos materiales disponibles de bajo costo y fácil manejo para adaptarlos a las diferentes formas de los hornos de las columnas. Sin embargo, el cobre y el aluminio forman óxidos en las paredes interiores del tubo. Estos óxidos adsorben o reaccionan con muchos compuestos e interfieren con el análisis. Los principales materiales usados para tubería de columnas son acero inoxidable, vidrio y níquel, aunque cada una presenta ciertas ventajas y desventajas.

La mayoría de las columnas analíticas empacadas tienen 2 mm. de diámetro interno; el diámetro externo correspondiente a las columnas de vidrio es 1/4 de pulgada. Las longitudes más comunes son 3 y 4 metros. De manera que para mezclas simples, se pueden obtener una separación rápida con columnas cortas de 1/2 metro. Las columnas más largas pueden aumentar la resolución, pero se debe recordar que para duplicar la resolución requiere un aumento de cuatro veces de longitud de columna.

El soporte sólido es la base sobre la cual reside la fase líquida. Generalmente consiste de partículas porosas pequeñas y uniformes. El soporte sólido como también la tubería, debe estar libre de óxidos catalíticos, los cuales pueden causar descomposición parcial de la muestra.

El soporte sólido también debe ser estable térmica y químicamente hablando, para que no se descomponga a temperaturas altas del horno del cromatógrafo durante el análisis. Finalmente el soporte debe contribuir para una alta eficiencia y capacidad de la columna. Los dos últimos requisitos significan que las partículas del soporte sólido deben ser partículas pequeñas de tamaño uniforme y porosas.

Los soportes sólidos más populares están hechos de tierras de diatomeas. Las diatomeas son un tipo único de algas que tienen estructuras porosas y contienen una alta concentración de sílica. Cuando las tierras de diatomeas son calentadas a altas temperaturas, con o sin la adición de un fundente (carbonato de sodio), las conchas se funden para formar un bloque sólido poroso. Este bloque es molido hasta obtener partículas pequeñas para usarse como soportes sólidos.

Cuando los soportes sólidos se producen, son separados en diferentes rangos de tamaño de partículas, cada uno designado por un tamaño estandar de malla. Por ejemplo en este trabajo se utilizó como soporte sólido "Supelcoport" (nombre comercial) 80/100, lo que significa que todas las partículas pasarán a través de una malla de 80 pero no por una de 100. Una malla de 80 es una que tiene 80 alambres por pulgada, por lo menos en un sistema estandar. Lo cual permitiría el paso de partículas cuyos diámetros fueran entre 149 a 177 μ .

La característica más importante de una fase líquida es su selectividad, es decir que sea capaz de separar los compuestos de la muestra. Una fase líquida es aquella que distingue entre dos compuestos de interés se disuelva bien en ella, por lo que uno debe inicialmente escoger una fase líquida que tenga la solubilidad apropiada característica para la muestra, y entonces escoger un componente que dé la selectividad propia en la fase.

El principio básico de la solubilidad es el que dice que "lo igual disuelve lo igual". Los compuestos pueden ser divididos en base a su polaridad. En términos fisicoquímicos, los compuestos son polares si tienen un momento dipolar (separación de carga). En CG, los compuestos polares se retienen más tiempo en una columna polar que en una no polar. En general los solventes polares son mejores para los compuestos polares y los solventes no polares son mejores para los compuestos no polares.

Para resumir, hay dos factores principales que permiten que la separación de mezclas se lleve a cabo en un cromatógrafo de gases: las volatilidades de los diferentes compuestos y sus solubilidades en la fase líquida, como se describió anteriormente. Para la mayoría de las mezclas, tanto la volatilidad de los componentes como su polaridad deberán ser tomadas en cuenta cuando se escoja una columna.

Las fases líquidas generalmente son líquidos lubricantes de silicón de diferentes polaridades ya que son los que cumplen los requisitos, es decir son químicamente estables e inertes a las mayoría de las compuestos que se inyectan en un cromatógrafo de gases. Son líquidos sobre un amplio rango de temperatura y sin volatilidad apreciable, hasta que alcanzan temperaturas altas (350 °C para silicones no polares y 275° C para silicones polares).

El tipo más común de columna para la cromatografía de gases es una fase líquida, la cual es aplicada sobre partículas pequeñas, inertes y duras, con lo que es empacada la columna a través de la cual el gas fluye. La temperatura óptima de la columna se fijará una temperatura alta (basado en los puntos de ebullición de los componentes de la muestra) sin llegar a la temperatura en donde la fase estacionaria se puede diluir.

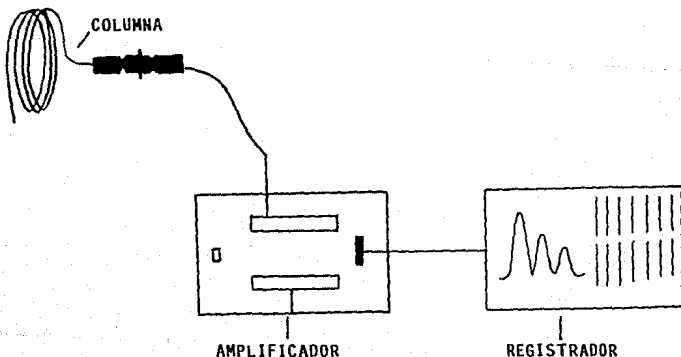
La columna utilizada para la detección de los compuestos de interés fue: Columna de vidrio no polar empacada mediante un soporte sólido diatomáceo con una superficie de $4.00 \text{ m}^2/\text{g}$, una densidad de 0.24 g/cc y una carga máxima de fase líquida de 25% en peso, esto es 25 gr de fase líquida por 100 gramos de soporte sólido. Esta carga máxima está directamente relacionada al área de superficie específica de cada soporte. Y carga mínima de 3%, si la cantidad de fase líquida es menor a la indicada no será suficiente para cubrir la superficie del soporte completamente. Y como fase líquida se utilizó un fluido de metil-silicón no polar debido a que se identificó compuestos no polares. Este fluido es un polímero que por ser proveniente de una goma de hule poseen un peso molecular elevado.

Al final de la columna los componentes emergen a diferentes tiempos. Sin embargo, la separación no ocurrirá a menos que la fase estacionaria no haya sido seleccionada adecuadamente.

3.6.1.3 DETECTOR

Ya que la mayoría de los compuestos separados en un cromatógrafo de gases son invisibles cuando son eluidos (esto es, salen al final de la columna), es necesario un dispositivo para detectarlos. Hay varios detectores disponibles, cada uno están basados en diferentes propiedades físicas o químicas de los compuestos a detectar.

Aunque la columna es el "corazón del cromatógrafo de gases", ésta no sería útil sin el cerebro que viene siendo el detector. Los detectores de CG hacen básicamente una sola función: convierten la salida invisible de la columna en una señal eléctrica, la cual puede ser graficada en un registrador. Mientras mayor sea la cantidad de componenetes que eluye de la columna, mayor será la señal eléctrica que genera la deflexión en la plumilla del registrador (FIG 6).



DETECTOR Y SU RELACION CON LA OTRAS PARTES DE UN SISTEMA CROMATOGRAFICO (FIG. 6).

Todo detector trabaja censando una propiedad física o química de los componentes que pasan a través de él.

La detección de los componentes a la salida de la columna, generalmente se efectúa mediante un detector de conductividad térmica ó de ionización de flama. Las variaciones de la conductividad ó de la corriente de ionización provocadas por la variación de la composición del gas, a medida que los componentes volátiles emergen de la columna, son amplificados y medidos directamente en un graficador o registrador, ésto es cuando la señal eléctrica a un registrador cuya pluma origina un cromatograma, el cuál es una gráfica sobre una hoja de papel representando en forma física las señales eléctricas emitidas por el detector a través del tiempo.

El detector de ionización de flama (FID) es probablemente el más popular en CG. Es sensible a la mayoría de los compuestos que contiene carbón es casi 100 veces más sensible el de conductividad térmica (TCD), así como también representa un menor costo que TCD.

La temperatura del detector deberá ser lo suficientemente alta, para prevenir condensación de los componentes en la celda. En particular un detector de ionización de flama nunca deberá usarse a temperaturas menores de 100°C, debido a que el agua formada en la flama se condensará en el detector. Se recomienda fijarla 20-50 °C arriba del punto de ebullición de dicho compuesto.

En cuanto a lo que se refiere al gas de acarreo, el primer requisito es que sea inerte, esto es que no reaccione con los compuestos a analizar o con la columna a las temperaturas elevadas usadas en el cromatógrafo. Tradicionalmente nitrógeno, helio y argón, han sido usados como gases de acarreo. Aunque hay buenas razones teóricas para elegir un gas sobre otros, la elección es generalmente hecha por la economía y por el tipo de detector usado.

La cromatografía de gases además de ser un método analítico, y de acuerdo a la facilidad de su manejo, ha sido la mejor herramienta para poder desarrollar este trabajo y a su vez cualquier anomalía en el aceite esencial.

La ejecución del análisis instrumental requiere una alta especialización técnica, además de un buen conocimiento de la composición y de las propiedades de cada constituyente de los aceites esenciales.

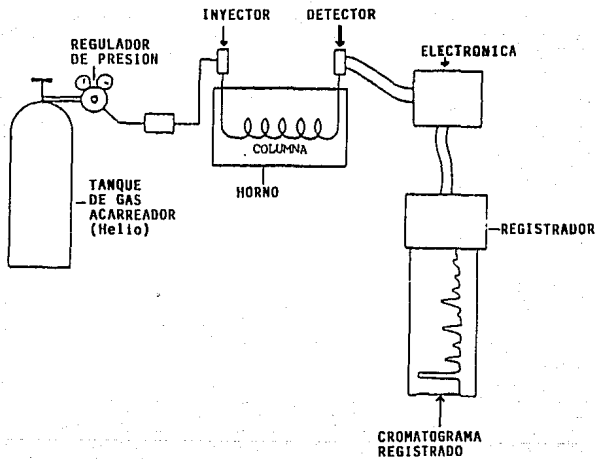


DIAGRAMA DE UN CROMATOGRAFO DE GAS-LIQUIDO (FIG. 7)

4. RESULTADOS.

4.1 MUESTRAS ANALIZADAS:

De acuerdo al objetivo planteados se hicieron estudios en el laboratorio de los siguientes aceites:

- 1) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO DESTILADO.
- 2) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO TIPO A.
- 3) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO TIPO B.
- 4) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO DESTILADO 2X.
- 5) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO TIPO A 2X.
- 6) ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO TIPO B 2X.

4.2 HOJA DE ANALISIS FISICOQUIMICOS Y SENSORIALES

Se analizaron muestras de los aceites anteriormente mencionados, producidos en el estado de Colima. De cada aceite se tomaron 15 gramos y se colocaron en botellas color ambar de 20 ml; se hicieron los análisis por triplicado para determinar la calidad del aceite, a partir de los métodos fisicoquímicos, sensoriales ya mencionados en el capítulo anterior, así como también se hizo uso del análisis cromatográfico ya descrito.

A continuación se enlistan los resultados obtenidos.

4.2.1 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO DESTILADO.

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, PICANTE, FRUTAL TIPO CITRICO
TERPENICO.

SABOR: CARACTERISTICO, LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS

ASPECTO: LIQUIDO CRISTALINO.

COLOR: AMARILLO PALIDO

FISICOQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 °C:	0.8635	0.858 - 0.864
INDICE DE REFRACCION 20 °C:	1.4780	1.475 - 1.4790
ROTACION ESPECIFICA 20 °C:	+ 38	+ 34 - + 45
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL):	0.69%	0.50 - 2.0%

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.2.2 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO "A".

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, PICANTE, FRUTAL TIPO CITRICO
RECUERDA AL AROMA DEL JUGO DE LIMA.

SABOR: CARACTERISTICO, LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS

ASPECTO: LIQUIDO CRISTALINO QUE PUEDE PRESENTAR UN
PRECIPITADO CEROSO.

COLOR: VERDE AMARILLENTO

FISICOQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 C	0.879	0.872 - 0.881
INDICE DE REFRACCION 20 C	1.4860	1.4820 - 1.4860
ROTACION ESPECIFICA 20 C	+ 37.0	+ 35.0 - + 41.0
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL)	4.61%	4.50 - 8.5%

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.2.3 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO "B"

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, FRUTAL DE TIPO CITRICO CON UNA LIGERANOTA HERBACEA, QUE RECUERDA A LA CASCARA DEL FRUTO.

SABOR: CARACTERISTICO, LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS.

ASPECTO: LIQUIDO CRISTALINO QUE PUEDE PRESENTARUN RECIPITADO CEROSOS.

COLOR: VERDE OSCURO.

FISICQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 °C	0.887	0.877 - 0.889
INDICE DE REFRACCION 20 °C	1.4850	1.485 - 1.4885
ROTACION ESPECIFICA 20 °C	NO DETECTABLE	- * -
CONTENIDO DE ALDEHIDO (CITRAL)	6.46%	5.0 - 9.5 %

-- El color intenso del aceite esencial del limón mexicano centrifugado no permite esta determinación.

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.2.4 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO DESTILADO 2X

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, FRUTAL TIPO CITRICO ACIDO QUE
RECUERDA EL JUGO DE LIMON.

SABOR: CARACTERISTICO LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS

ASPECTO: LIQUIDO CRISTALINO.

COLOR: AMARILLO VERDOSO

FISICOQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 °C:	0.8878	0.870 - 0.889
INDICE DE REFRACCION 20 °C:	1.4820	1.475 - 1.485
ROTACION ESPECIFICA 20 °C:	+ 22	+ 15 - + 37
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL)	0.76%	0.5 - 2.0%

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.2.5 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO "A" 2X

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, FRUTAL TIPO CITRICO QUE RECUERDA AL AROMA DE LA LIMA.

SABOR: CARACTERISTICO, LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS.

ASPECTO: LIQUIDO CRISTALINO.

COLOR: AMARILLO VERDOSO

FISICOQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 °C	0.8826	0.880 - 0.890
INDICE DE REFRACCION 20 °C	1.4870	1.485 - 1.489
ROTACION ESPECIFICA 20 °C	+ 27	+ 25 - + 32
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL)	6.22%	4.50 - 8.50%

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.2.6 ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO CENTRIFUGADO "B" 2X.

RESULTADOS DE ANALISIS.

ORGANOLEPTICAS:

CARACTERISTICAS

OLOR: FRESCO, FRUTAL TIPO CITRICO QUE RECUERDA AL AROMA DE LA CASCARA DEL FRUTO.

SABOR: CARACTERISTICO, LIBRE DE SABORES EXTRAÑOS

ASPECTO: LIQUIDO LIGERAMENTE TURBIO, DEBIDO A QUE PRESENTA TRAZAS DE PRECIPITADO CEROSO.

COLOR: VERDE OSCURO.

FISICOQUIMICAS:

RESULTADOS

* LIMITES

DENSIDAD 20 °C	0.9192	0.889 - 0.920
INDICE DE REFRACCION 20 °C	1.4980	1.489 - 1.5
ROTACION ESPECIFICA 20 °C	NO DETECTABLE	- * -
CONTENIDO DE ALDEHIDOS (CITRAL)	12.09	10.0 - 13.0%

-- El aceite esencial de limón mexicano presenta un color verde intenso que no permite dicha determinación.

* REF. Norma Oficial Mexicana "DGN-K 417-1987"

4.3 ANALISIS POR CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO.

Como ya visto en el capítulo anterior el cromatógrafo Gas-Líquido que fué utilizado es conocido como VARIAN VISTA 6000, con un detector de ionización de flama usando una columna de vidrio no polar.

El gas portador utilizado fué helio con una velocidad lineal de 30 mm/min.

A continuación se cita el programa de temperaturas del horno cromatográfico diseñado y utilizado especialmente para la detección de los derivados cumarínicos

El programa de incremento en las temperaturas del horno cromatográfico:

TEMP °C	VELOCIDAD °C/min	TIEMPO DE PERMANENCIA (min)
Temperatura inicial	98	3.5
1)	140	3.2
2)	170	3.0
3)	207	3.2
4)	248	3.1

TEMPERATURA DEL INYECTOR 270 °C

TEMPERATURA DEL DETECTOR 280 °C

ANALISIS DE RESULTADOS

La identificación de los picos se realizó tomando base los compuestos mencionados en la literatura como presentes en el aceite esencial de "LIMON MEXICANO", a excepción del derivado cumarínico "LIMETINA" identificado, puesto que en la literatura no ha sido publicada, y para esta situación fué necesario correr una muestra pura de limetina, que me pudiera servir como muestra de referencia.

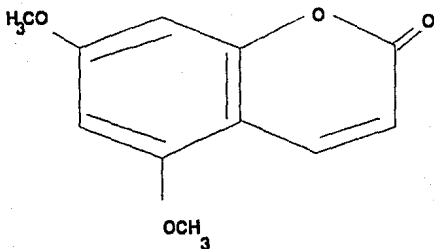
Para la determinación de los derivados cumarínicos, el cromatograma se llevó a cabo en una columna no polar, con el fin de que dicho componente eluyera fácilmente en la fase.

Como ya se mencionó el derivado cumarínico identificado en los tres diferentes tipos de aceite esencial de limón mexicano examinados, fué la "LIMETINA", llamada más comúnmente "CITROPTENO".

La "LIMETINA", es un sólido cristalino color café oscuro, nombrado químicamente como:

5,7-DIMETOXICUMARINA.

Este compuesto presenta un punto de fusión de 147-148. Es insoluble en agua caliente y en eter; y soluble en alcohol, cloroformo y acetona. Tiene como fórmula empírica $C_{11}H_{10}O_4$ y una estructura química:

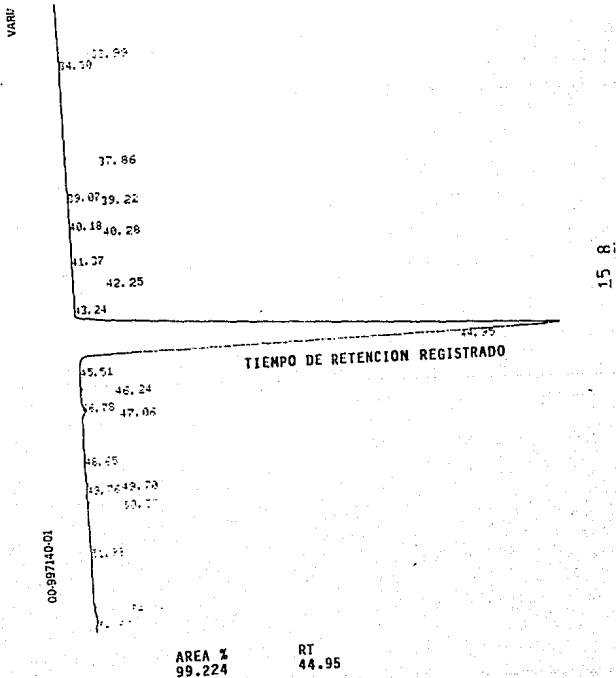


La "LIMETINA", es un compuesto que está presente en la cáscara, jugo y en las glándulas que contienen el aceite esencial de varias frutas cítricas como son el LIMON MEXICANO, mandarina, toronja, bergamota y en la naranja.

En el limón mexicano se encuentra entre un 0.89-1.70% del fruto entero, y es por esta razón por la que se le considera uno de los principales derivados cumarínicos en dicho fruto.

Se anexan cromatogramas correspondientes a cada uno de los aceites esenciales analizados: Tomando como referencia la detección de la limetina (derivado cumarínico).

CROMATOGRAMA NUM. 1 "LIMETINA - MUESTRA PATRON".

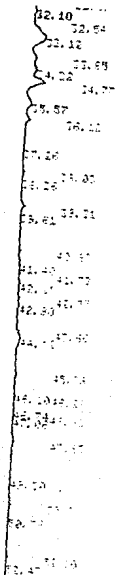


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CRONATOGRAMA NUM. 2 "ACEITE ESENCIAL DESTILADO".

00-997140-01

VARDAN INSTRUMENT GROUP

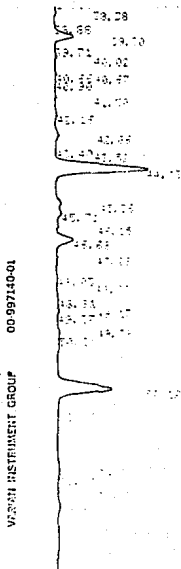


10 6

AREA %
0.03 RT
44.12

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA NUM. 3 "ACEITE ESENCIAL CENTRIFUGADO TIPO A".



11 4

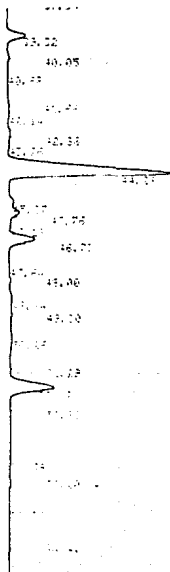
AREA %
0.374

RT
44.13

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA NUM. 4 "ACEITE ESENCIAL CENTRIFUGADO TIPO B".

VARIAN INSTRUMENT GROUP 00-997140-01



12 1

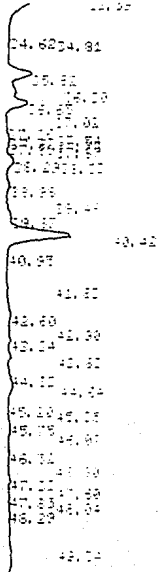
AREA %
0.884

RT
44.28

TESIS CON
FALSA ORIGEN

CROMATOGRAMA NUM. 5 "ACEITE ESENCIAL DESTILADO 2X".

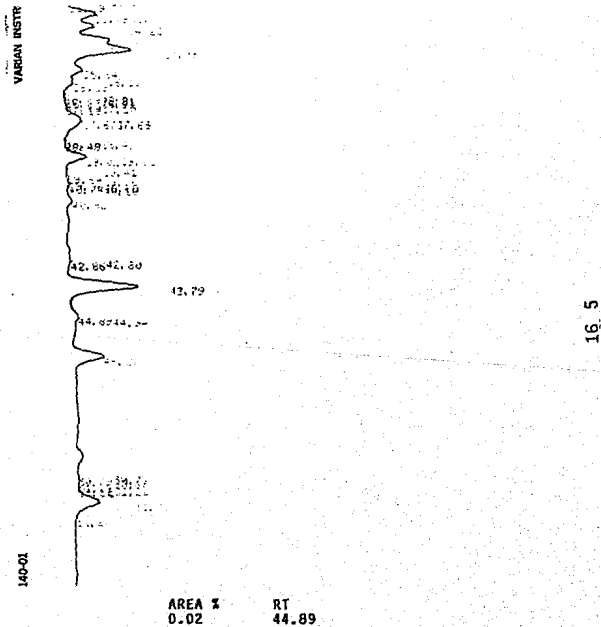
VARIAN INSTRUMENT GROUP 00-5



AREA % 0.01 RT 44.33

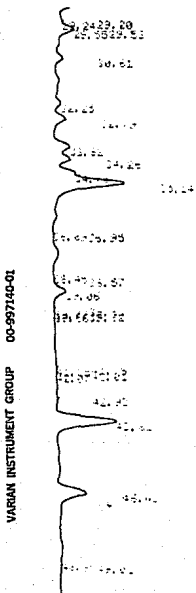
TEMAS CON
FALSA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA NUM 6 "ACEITE ESENCIAL CENTRIFUGADO TIPO A 2X".



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA NUM 7 "ACEITE ESENCIAL CENTRIFUGADO TIPO B 2X".



16 1

AREA % 0.00 RT 0.00

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

5. CONCLUSIONES

1) Las condiciones geográficas y climáticas han propiciado el enorme auge del limón y sus derivados. Esta variedad representa 91% de la producción total nacional de limón, el 11.0% de la producción mundial y el primer lugar mundial en producción de aceite esencial de limón mexicano.

2) Dado que actualmente sólo se obtiene el aceite de limón mexicano como subproducto del fruto, sería necesaria una explotación integral que permita obtener también otros subproductos como el ácido cítrico, citrato de calcio, pectinas, melazas, cáscara (fresca ó seca), lo que fomentaría la comercialización en nuevos mercados con amplias posibilidades de desarrollo.

3) La industrialización del limón mexicano permite la obtención a nivel comercial de tres tipos de aceite esencial:

- a) Aceite esencial destilado.
- b) Aceite esencial centrifugado tipo "A".
- c) Aceite esencial centrifugado tipo "B".

Los cuales son utilizados como materia prima para la obtención de diversos productos que a su vez se utilizan en la elaboración de otros principalmente en la manufactura de sabores, bebidas no alcohólicas, repostería, confitería y en productos farmacéuticos y cosméticos.

4) El aroma característico es atribuido a los compuestos oxigenados volátiles (alcoholes, aldehidos, cetonas y esterés) mientras que los hidrocarburos y el residuo no volátil (ceras, derivados cumarínicos) no tienen influencia sobre el aroma y su presencia es contraproducente, ya que pudieran precipitarse y dar mala apariencia. Pueden determinar notables alteraciones como una mala solubilización en alcohol etílico, disolvente muy utilizado en la elaboración de substancias aromáticas.

5) Es de gran importancia el poder incrementar la concentración de compuestos oxigenados volátiles eliminando casi por completo aquellos compuestos que constituyen una carga no deseable. Dado lo anterior, es de gran interés en el mercado el uso de aceites esenciales concentrados, esto es, la eliminación de los componentes terpénicos así como de componentes sesquiterpénicos de acuerdo a una concentración deseada.

6) Los métodos utilizados para la extracción de los aceites esenciales son de baja efectividad en la separación total del residuo no volátil, provocando que no sea eliminada por completo la parte no deseable del aceite. Esto ocasiona la presencia de algunas ceras y derivados cumarínicos en el aceite esencial utilizado en la industria.

7) Siendo la industria alimentaria muy escrupulosa en lo que respecta a la calidad de los aceites se establecieron normas (GRAS, FEMA, FDA) precisas que determinan el uso de los distintos ingredientes que serían utilizados en la formulación de los alimentos.

8) La Ley General de Salud emitida el 18 de enero de 1988 por la Secretaría de Salud en su artículo 70 determina que queda prohibido emplear como aditivo para alimentos y bebidas un listado de compuestos entre lo que se menciona la cumarina.

9) El residuo no volátil que llegase a pasar a la fase oleosa contiene ceras y derivados cumarínicos. Atendiendo al principio fundamental de la legislación que es la protección del consumidor, sólo el hecho de que en el aceite esencial existan derivados cumarínicos con estructura semejante a la cumarina, consideraría este producto tóxico al consumidor. Sin embargo por uso tradicional seguro listas GRAS (al que denominan la "cláusula del abuelo") el aceite esencial de limón no es nocivo al organismo.

10) El control analítico de un aceite esencial en la industria cítrica es de fundamental importancia; la finalidad es determinar la calidad ó pureza de un aceite esencial, tanto que por muchos años se les ha complementado con el examen organoléptico.

11) Estos métodos analíticos: organolépticos y fisicoquímicos se caracterizan por su rapidez y sencillez de ejecución, lo cual permite ser un elementos determinante en la detección de algún error.

12) La cromatografía de gases, es un método que consta de un equipo instrumental sencillo, muy sensible y rápido para la detección de compuestos volátiles, y en general menos costoso que otros tipos de cromatografía.

13) La limetina (5,7-dimetoxicumarina), derivado cumarínico presente en el aceite de limón entre un 0.87-1.70%, fué detectada químicamente mediante cromatografía de gases, técnica ampliamente difundida.

14) La limetina presente en el limón mexicano pudiese haberse perdido (aunque no en su totalidad), en algún paso de su extracción. En las muestras analizadas de cada uno de los diferentes tipos de aceite esencial obtenido tanto el aceite simple como el concentrado, se detectó trazas de el compuesto estudiado, obteniéndose como mayor resultado porcentaje de limetina en el aceite esencial centrifugado tipo "B" simple. Como era de esperarse, el motivo fué que existe mayor contacto del aceite esencial con la cáscara del fruto.

15) Obviamente en el aceite esencial simple centrifugado tipo "B", se encontró el porcentaje más alto, el cual fué de 0.884% de limetina.

6. BIBLIOGRAFIA

1. ALLEN, J.L.: " LIME JUICE AND LIME OIL PRODUCTION AND MARKETS". REPORT G-45. TROPICAL PRODUCTS. FEB, pp 39-49. U.S.A (1970).
2. ALVAREZ URIARTE, M. Y CHAVEZ VEGA G.: LIMON O LIMA AGRIA Y SUS DERIVADOS. MERCADOS Y PRODUCCION. DEPARTAMENTO DE ESTUDIOS ECONOMICOS DEL BANCO DE COMERCIO EXTERIOR. MEXICO (1981).
3. ANALITICAL METHODS COMMITTEE: "APLICATION OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TO THE ANALYSIS OF ESSENTIAL OILS". PART 1 "DETERMINATION OF BERGAPTENE (4-METHOXYFURO [3,2-G] CHROMEN-7-ONE) (8-METHOXYPORALEN) IN OILS OF BERGAMOT". ANALYST. VOL. 112; 195-8 U.S.A. (1978).
4. ANDRADE ASCENCIO, J.L.: "EL EMPAQUE DEL LIMON MEXICANO EN COLIMA Y MICHOACAN". COMISION NACIONAL DE FRUTICULTURA SAG. SERIE TECNICA. FOLLETO # 19. (1974).
5. ANDRADE ASCENCIO, J.L.: "INDUSTRIALIZACION DEL LIMON MEXICANO". COMISION NACIONAL DE FRUTICULTURA SAG. SERIE TECNICA. FOLLETO # 18. (1973).
6. ANUARIO FAO DE COMERCIO. VOL. 39. pp 202. (1985).
7. ANUARIO FAO DE PRODUCCION. VOL. 39. pp 522. (1987).
8. ARCTANDER, S.: PERFUME AND FLAVOR MATERIALS OF NATURAL ORIGIN. pp. 371-78. NEW JERSEY, U.S. (1960).

9. AZZOUZ, M.A. et al.: "COMPARISION BETWEEN COLD-PRESSED AND DISTILLED LIME OIL TROUGH THE APLICATION ON GAS CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY". J. FOOD SCI. 41(6): 324-28. (1976).
10. BRADDOCK, R.J. & KESFERSON, J.W.: "QUNATITATIVE ANALYSIS OF ALDEHYDES, ESTERES, ALCOHOLS & ACID FROM CITRUS OIL" J. FOOD SCI. 41:107 U.S.A. (1976).
11. CARMONA, P.: "ESTUDIOS DE ACEITES ESENCIALES DE LIMON. PROCESO DE ENVEJECIMIENTO". AGRO-QUIM. TEC ALIM. 14:375-86. (1979).
12. CIERI, V.R.: "CHARACTERIZATION OF THE STEAM NON-VOLATILE RESIDUO OF BERGAMOT OIL & SOME OTHER ESSENTIAL OILS". J. OF AOAC 52 (4) 712-28 U.S.A. (1969).
13. CODIFICACION SANITARIA MEXICANA: "ADITIVOS:. MEXICO (1978).
14. DI GIACOMO, A. E CALVARANO I.: "I COMPENENTI DEGLI AGRUMI". ESSENZE DERIVATI AGRUMARI. 44:28-29 ITALIA (1979).
15. FANGHÄL E., TAPANES R. Y PEREZ ZAYAS J.: ANALISIS DE LAS CUMARINAS DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMETA CENTRIFUGADO (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE) PRODUCIDO EN CUBA". REVISTA CENIC. 3(1)111-24 CUBA (1971).
16. GUENTHER, E.: THE ESSENTIAL OILS. VOL. III, D. VAN NOSTRAND COMPANY, INC. NEW JERSEY, U.S. (1948).

17. HARO GUZMAN, L.: ACEITE ESENCIAL DE LIMON MEXICANO. MANUAL TECNICO FIDEFRUT No. 1, pp 01-21 MEXICO (1982).
18. HARO GUZMAN, L.: COMPOSICION Y ESTABILIDAD DE LA ESENCIA DEL LIMON MEXICANO. PERF. MOD. 22(3):5-12 MEXICO (1985).
19. HARO GUZMAN, L. Y HUET, R: EL ACEITE ESENCIAL DE "LIMON" EN MEXICO (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE). PERF. MOD. 24(2):16-23 MEXICO (1978).
20. HARO GUZMAN, L. Y SILVA RIOS Y.: "EVALUACION DEL GRADO DE CONCENTRACION DE LOS ACEITES ESENCIALES CITRICOS PRODUCIDOS EN MEXICO". PERF. MOD. 34(3):55-69 MEXICO (1972).
21. HARO GUZMAN, L.: "LA DETERPENACION DE LOS ACEITES ESENCIALES". PERF. MODERNA. 35(7):29-33. (1976).
22. HARO GUZMAN, L. ET AL.: "COMPARATIVE STUDY OF THE ESSENTIAL OILS OF KENYA AND PERSIAN PERSIAN LIMES. PERFUMER AND FLAVORIST. 10(5):67-72. U.S.A. (1985).
23. HARO GUZMAN, L.: "LA INDUSTRIA MEXICANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE)". PERF. MOD. 10(10): 14-17 MEXICO (1977).
24. KEFFERD, J.F., CHANDER B.V.: "THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF CITRUS FRUITS". 1a. EDISION. pp 99,101-3. NEW YORK, U.S. (1970).

25. LATZ, W.H. & MADSEN L.B.: "TOTAL LUMINESCENCE OF COUMARINE DERIVATIVES ISOLATED FROM EXPRESSED LIME OIL". ANALYTICAL CHEMISTRY. VOL. 41 (10) 1180-5 U.S.A. (1969).
26. LAWRENCE, B.M. & REYNOLDS B.J.: "PROGRESS IN ESSENTIAL OILS (LIME OIL)". PERFUME FLAV. 11:76-78 U.S.A. (1986).
27. LAWRENCE, B.M. & REYNOLDS B.J.: "LIME OIL DISTILLED". 10:56-60 (1985).
28. MERCADO EXTERIOR FRUTICOLA. CONAFRUT. 7 (ENE-FEB): 20-45 (1982).
29. NORMA OFICIAL MEXICANA "DGN-K-417-1987".
30. NORMA OFICIAL MEXICANA "DGN-F-62-1987".
31. NORMA OFICIAL MEXICANA: "TERMINOLOGIA DE ACEITES ESENCIALES DGN-K-90-1974".
32. ONCHI NAVARRO, V.: "ESTUDIO COMPARATIVO DEL LIMON VS. LIMON PERSA EN ACEITE CENTRIFUGADO TIPO B Y EN ACEITE DESTILADO. PERF. MODERNA. SEPT.:5-8. (1982).
33. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. COLECCION FAO. ESTADISTICA No. 70.
34. REUTHER, W., WEBBER, H.J. AND BATCHELOR L.D.: THE CITRUS INDUSTRY, VOL. 1. Ed. DN DIV OF AGRI. SCI. (1967), pp 09, 364 367.

35. SAFINA, G.: LOS DERIVADOS DE LOS CITRICOS. 2a.ed. FIDEICOMISO DEL LIMON EN NACIONAL FINANCIERA, S.A. MEXICO, (1978). pp 03-43, 106-11.
36. SANCHEZ COLIN, S.: CULTIVO DE LIMONERO-INDUSTRIALIZACION DEL LIMÓN. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y FOMENTO. MEXICO (1942), pp 11-29.
37. SINCLAIR WALTON, B.: "THE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY OF THE LEMON AND OTHER CITRUS FRUITS. 1a. EDISION. DIVISION OF AGRICULTURE AND NATURAL RESOURCE. pp 220-23, 253, 287-89. U.S.A. (1984).
38. STANLEY W.L. & VANNIER S.H.: CHEMICAL COMPOSITION OF LEMON OIL AND ISOLATION OF A SERIES OF SUBSTITUTED COUMARINS". j. ANN CHEM. SOC. 3488-91 U.S.A (1976).
39. STANLEY W.L.: "A TEST FOR CHALCONES IN LEMON OIL", J. OF AOAC 44(3) 596-8 U.S.A. (1978).
40. STANLEY W. L. & CURD L."CITRUS COUMARINS". J. ARG FOOD CHEM, 19(6) 1106-10 U.S.A. (1971).
41. SOINE T.O.: "NATURALLY OCCURING COUMARINS AND RELATED PHYSIOLOGICAL ACTIVITIES". J. OF PHARMACEUTICAL SCIENCES VOL. 53(3) 231-62 U.S.A (1974).
42. TAPANES, R. Y PEREZ ZAYAS, J.: ANALISIS DE LA FRACCION TERPENICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMETA DESTILADO (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE) EN CUBA". REV. CENT. NACIONAL 3:99-110. (1975).

43. TAYLOR R.J.: "FOOD ADDITIVES". JOHN WILLEY & SONS 102-5 U.S.A. (1980).
44. WILLEY, R.C.: "STUDIES ON TERPENTINE (LIKE OF ODOR IN COLA). J. FOOD SCI. 49:485-8, 497 (1984).
45. ZIEGLER, E.: "THE EXAMINATION OF CITRUS OILS" FLAVOR IND 2:647-53. (1971).