

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

Identificación y cuantificación de los componentes principales del aceite esencial del flavedo (cáscara) de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.

JORGE ARTURO MAZARIEGOS MONTERROSO

QUÍMICO

Guatemala, Octubre 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

Identificación y cuantificación de los componentes principales del aceite esencial del flavedo (cáscara) de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.

INFORME FINAL DE TESIS

Presentado por:

JORGE ARTURO MAZARIEGOS MONTERROSO

Para optar al título de:

QUÍMICO

Guatemala, Octubre 2008

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urízar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez	Vocal IV
Br. Aníbal Rodrigo Sevillanos Cambronero	Vocal V

DEDICATORIA

A Dios.

Por derramar tantas bendiciones sobre mí.

A mis Padres.

Jorge Rubén Mazariegos Lizama y Miriam Marissa Monterroso Orozco, por creer en mí, por su inmenso amor, por su incondicional apoyo y guía durante mi vida.

A mi Abuelita.

Eddy Aurora Pardo, por brindarme su incondicional apoyo y amor.

A mi Hermana y Cuñado.

Cristina y Guillermo, por su amor e incondicional apoyo durante los años de mi carrera.

A mis queridos amigos.

Carmen Garnica, Esmeralda Orantes, Ellen Aguilar, Rodrigo Sacahuí, Pedro Ordóñez, Claudia Arreaga y Jorge Torres por su incondicional apoyo durante los años de la carrera.

A mi amada Martita.

Por su incondicional apoyo en la culminación de este trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Diana Pinagel y M. Sc. Silvia Echeverría por su asesoría durante la elaboración de este trabajo de investigación. Por obsequiarme su amistad, su confianza, sus conocimientos y experiencia invaluable durante mi formación profesional.

A la Licda. María del Carmen Arroyo y Licda. Fabiola de Micheo por brindarme su amistad, confianza y apoyo durante la elaboración de este trabajo de investigación.

A el M. Sc. Ricardo Velíz por sus consejos y colaboración durante la elaboración de este trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por su colaboración durante la elaboración de este trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por su apoyo durante la elaboración de este trabajo de investigación.

A la Unidad de Análisis Instrumental y al Departamento de Química Orgánica por su apoyo y colaboración durante la elaboración de este trabajo de investigación.

INDICE

I. Resumen.	11
II. Introducción.	12
III. Antecedentes.	14
A. Investigaciones previas de la composición del aceite esencial de mandarina.	14
B. Mandarinas o Tangerinas.	24
1. Nombre científico.	25
2. Familia.	25
3. Nombre común.	26
4. Descripción botánica.	26
5. Hábitat.	26
6. Agricultura.	26
a. Requerimientos climáticos y edáficos.	26
C. Uso de extractos y de aceites esenciales de la mandarina.	27
1. Usos medicinales.	27
2. Farmacología.	28
3. Composición química.	28
4. Farmacognosia.	29
5. Toxicología.	29
D. Aceites Esenciales.	29
1. Definición.	29
2. Clasificación de los aceites esenciales.	30
3. Distribución y estado natural.	31
4. Componentes principales del aceite esencial de cítricos.	32
a. Generalidades.	32
E. Métodos para la extracción de aceites esenciales.	34
1. Prensado (Expresión).	34
2. Destilación por arrastre con vapor de agua.	34
3. Extracción con disolventes.	35
5. Enflorado.	35
6. Extracción con fluidos supercríticos.	35
F. Cromatografía de Gases.	36
1. Fundamentos y principios básicos.	36
a. Cromatografía gas-sólido (GSC).	36
b. Cromatografía gas-líquido (GLC).	36
2. Instrumentación.	37
a. Gas portador.	37
b. Sistema de inyección de muestra.	37
c. Columnas y sistemas de control de temperatura.	37
d. Detectores.	38

i) Detector de ionización de llama.	38
ii) Detector de conductividad térmica.	38
iii) Detector termoiónico.	38
iv) Detector de captura de electrones.	39
v) Detector de emisión atómica.	39
e. Columnas.	39
i) Columnas de relleno.	39
ii) Columnas capilares.	39
f. Fase estacionaria.	40
G. La Espectrometría de Masas (EM) como complemento de la Cromatografía de Gases (CG).	40
H. Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas y su papel en el estudio de aceites esenciales.	40
IV. Justificación.	42
V. Objetivos.	44
VI. Hipótesis.	45
VII. Materiales y Métodos.	46
VIII. Resultados.	54
IX. Discusión de Resultados.	64
X. Conclusiones.	68
XI. Recomendación.	70
XII. Referencias.	71
XIII. Anexos.	74

INDICE DE TABLAS

Tabla No.	Contenido	Página
1	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina italiana determinadas por Gildemeister y Hoffman.	15
2	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina italiana determinadas por los laboratorios Fritzsche Brothers, Inc.	15
3	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina brasileña determinadas por los laboratorios Fritzsche Brothers, Inc.	16
4	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de dos variedades de mandarina cultivadas en Florida, Estados Unidos.	17
5	Propiedades físicas del aceite esencial de Limón (<i>Citrus aurantifolia</i>), Mandarina (<i>Citrus reticulata Blanco</i>) y Naranja Amarga (<i>Citrus aurantium L.</i>)	20
6	Propiedades químicas del aceite esencial de Limón (<i>Citrus aurantifolia</i>), Mandarina (<i>Citrus reticulata Blanco</i>) y Naranja Amarga (<i>Citrus aurantium L.</i>)	20
7	Rendimiento de extracción promedio del aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra), <i>Citrus reticulata</i> (Mandarina común) y <i>Citrus reticulata Blanco</i> ó <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy).	54
8	Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra).	55
9	Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común).	57
10	Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reticulata Blanco</i> o <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy).	59
11	Componentes principales cuantificados en Sabor de Mandarina No. 100.	61

Tabla No.	Contenido	Página
12	Componentes traza identificados en el aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra), <i>Citrus reticulata</i> (Mandarina común) y <i>Citrus reticulata Blanco</i> ó <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy).	63
13	Algunas fases estacionarias comunes en cromatografía de gases.	76
14	Listado de nombres y estructuras químicas de los componentes volátiles de los aceites esenciales presentes en la mandarina.	77
15	Tiempos de retención y algunas propiedades físicas de los principales componentes del aceite esencial de mandarina.	90
16	Rendimiento de extracción del aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra), <i>Citrus reticulata</i> (Mandarina común) y <i>Citrus reticulata Blanco</i> ó <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy).	117

INDICE DE FIGURAS

Figura No.	Contenido	Página
1	Cromatograma del aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra).	56
2	Cromatograma del aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común).	58
3	Cromatograma del aceite esencial del flavedo de <i>Citrus reticulata</i> . Blanco o <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy).	60
4	Cromatograma de la muestra del Sabor de Mandarina No. 100.	62
5	Aparato para destilación por Arrastre con vapor de agua Clevenger (hidrodestilación).	74
6	Columna para la obtención de aceites esenciales tipo clevenger.	75
7	<i>Citrus reshni</i> (Mandarina Cleopatra).	91
8	<i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común).	91
9	<i>Citrus Reticulata</i> Blanco ó <i>Citrus Tangerina</i> (Mandarina Dancy).	92

I. RESUMEN

En Guatemala es limitada la información que existe acerca de investigaciones sobre la composición química de los aceites esenciales de cítricos, con esta investigación se caracterizó la composición química del aceite esencial extraído de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy), variedades de mandarina que se producen en Guatemala.

Para realizar la separación, identificación y cuantificación de los principales componentes de los aceites esenciales se realizaron análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, esta técnica instrumental permitió establecer que los aceites esenciales poseían al menos 28 componentes, 7 de los cuales se encontraban presentes en las tres variedades de mandarina investigadas.

Las tres variedades de mandarina presentan altas concentraciones relativas del hidrocarburo monoterpénico limoneno seguido del γ -terpinoleno y en menor concentración relativa, el α -terpineol y β -pineno.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas permitió establecer también los tiempos de retención, así como la concentración relativa para cada uno de los componentes y más importante aún, esta técnica instrumental permitió identificar a cada uno de los componentes principales presentes en cada variedad, incluso los que se encontraban a niveles traza, tal es el caso del acetato 9-decenílico, el sabineno, el α -terpineno, el 1-octanol, el Z-citral y el (+)-2-careno. La identificación de cada componente se realizó mediante la comparación del espectro de masas obtenido experimentalmente para cada componente contra el espectro de masas de referencia de la base de datos espectral Wiley275 (ver anexos 5 al 16 y 20 al 41), estableciéndose de esa manera la identidad y concentración relativa de los componentes presentes en las variedades de mandarina investigadas.

II. INTRODUCCIÓN

Los diferentes microclimas y suelos de Guatemala hacen posible una extraordinaria biodiversidad de productos de origen vegetal de los cuales pocos son explotados y una gran cantidad no ha sido descubierta. Un grupo particular de productos o metabolitos son los aceites esenciales, producidos por algunas plantas, entre éstas, la familia de las rutáceas se caracteriza por llevar a cabo la producción biosintética de estos metabolitos que son sustancias olorosas que, por regla general, se consideran como productos biosintetizados por la ruta de la acetilcoenzima a través de un intermediario denominado ácido mevalónico.

La familia de las rutáceas lleva a cabo la producción de aceites esenciales tanto en frutos, hojas, flores, corteza y raíces, pero la concentración de los componentes del aceite esencial puede variar dependiendo de la parte de la planta (1). Los aceites esenciales se extraen de los tejidos en los que se desarrollan y la biosíntesis de estas sustancias se encuentra relacionada estrechamente con el metabolismo, la fertilización y protección contra enemigos naturales, siendo también utilizados por el hombre en múltiples formas. Por ejemplo, los aceites esenciales de las flores de jazmín, clavel y rosas confieren olores agradables a perfumes, jabones, desodorantes, cosméticos e incienso y el aceite esencial de citronela es un ingrediente corriente en jabones y perfumes (1).

En Guatemala se cultivan algunas variedades de mandarina, esto representa una gran oportunidad para nuestro país en el mercado de los productos forestales no maderables como: aceites esenciales y oleorresinas, gomas y resinas, colorantes, pigmentos y tintas naturales, hierbas y especias, plantas medicinales y fitofarmacéuticos; no obstante, estas variedades de mandarina no son aprovechadas industrialmente. Dentro de éstas se encuentran las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy), las cuales se adaptan a las condiciones agroecológicas del departamento

de Suchitepéquez. Recientemente del flavedo de la mandarina *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) se ha extraído el aceite esencial para efectuar pruebas fitofarmacéuticas, comprobando que este aceite esencial presentaba capacidad inhibitoria hacia el crecimiento de bacterias tales como: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori* y *Salmonella* que resultan ser patógenas para el hombre (13,21).

Los aceites esenciales cítricos han sido estudiados (naranja, pomelo, limón, mandarina, etc.) y se ha determinado su composición química, lo cual ha permitido establecer usos y valor comercial de los mismos, convirtiendo a los aceites esenciales cítricos en el sector más grande de la producción mundial de aceites esenciales. La alta concentración de compuestos como d-limoneno, citronelal, linalool y citral hacen que estos aceites sean muy atractivos para la industria del aroma y sabor. La mandarina Cleopatra, Común y Dancy dentro de su clasificación taxonómica son cítricos, sin embargo, es limitada la información que se ha publicado acerca de las mismas, tales como aspectos agronómicos, composición química, usos industriales, etc. A diferencia de Guatemala, en otros países la industria de los aceites esenciales está muy desarrollada y encuentra gran aplicación en la medicina, la industria cosmética, de alimentos y de variados productos obtenidos mediante la industria química (19).

Sin embargo, Guatemala a pesar de su potencial en biodiversidad es un gran importador de este tipo de cítricos. Este trabajo de investigación permitió determinar cuales son los principales componentes del aceite esencial del flavedo de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), lo cual permitió posteriormente mediante estudios complementarios determinar la calidad de los mismos, el valor comercial y sus posibles usos industriales.

III. ANTECEDENTES

A. INVESTIGACIONES PREVIAS REFERENTES A LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MANDARINA.

El primer trabajo del que se tiene conocimiento fue realizado por Gildemeister y Stephan en 1897, el estudio consistió en determinar e identificar el componente principal del aceite esencial de mandarina italiana, su investigación concluyó que efectivamente el d-limoneno era el componente principal. La identificación consistió en la preparación de un derivado bromado que poseía un punto de fusión con los valores siguientes, 104-105 °C, de acuerdo al intervalo de fusión se pudo sustentar la pureza de la sustancia derivada del d-limoneno y así corroborar su identidad indirectamente (3).

Walbaum descubre que el N-Metilantranilato de metilo es el constituyente más importante del aceite esencial de la mandarina italiana, estableciendo que menos del 1 % del éster esta presente en el aceite esencial y que es el responsable de proporcionarle su peculiar aroma al aceite esencial de mandarina italiana (4).

Durante las primeras tres décadas del siglo 20 se establece una metodología completa para la clasificación de las variedades de mandarina que existían, esta metodología estableció cuales eran los distintos patrones que se cultivaban a nivel mundial, dando esto lugar a la caracterización de las variedades de mandarina y a sus aceites esenciales a nivel mundial (5,6,7).

Así mismo en el año de 1934, Nelson realizó un estudio de la composición química del aceite esencial de distintas variedades de mandarina que se cultivaban en Florida, Estados Unidos. Nelson extrae los aceites esenciales al comprimir el flavedo (cáscara), su estudio determina que variedades similares de mandarina poseían aceites esenciales con diferencias en su composición química.

Concluyó también que la razón principal de las diferencias en cuanto a composición química se debía a la calidad del suelo donde se cultivaban las

variedades de mandarina así como también a las diferencias climáticas presentes en la localidad de cultivo (8).

Gildemeister y Hoffman en 1940 realizaron un estudio de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina italiana determinando las siguientes propiedades:

Tabla No. 1. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina italiana determinadas por Gildemeister y Hoffman.

Parámetro	Valor calculado
Gravedad específica a 15°/15°	0.854 a 0.859
Rotación óptica	65° 0' a +75° 0', usualmente no menor a +70° 0'
Índice de refracción a 20 °C	1.475 a 1.478
pH	2.7
Índice de Esterificación	5.0 a 11.0; en algunos casos mayor a 18.7.
Residuo de evaporación	2.4 a 3.5 %.
Solubilidad	Soluble en alcohol al 90 %, presentando turbiedad.

Fuente: Die Atherischen Ole. 3d. Ed. Vol. III

Análogo a este estudio los laboratorios Fritzsche Brothers, Inc. de New York establecen también las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial extraído de mandarina italiana, siendo los siguientes.

Tabla No. 2. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina italiana determinadas por los laboratorios Fritzsche Brothers, Inc.

Parámetro	Valor calculado
Gravedad específica a 15°/15°	0.855 a 0.857
Rotación óptica a temperatura ambiente	69° 36' a +73° 15'
Índice de refracción a 20 °C	1.4750 a 1.4759
Índice de Esterificación	7.5 a 8.8
Residuo de evaporación	2.4 a 3.2 %.
Solubilidad	Completamente insoluble en alcohol al 90%.
Color	Amarillento

Fuente: Die Atherischen Ole. 3d. Ed. Vol. III

Durante los años de la Segunda Guerra Mundial el aceite esencial de mandarina proveniente de Italia no estaba disponible, Brazil entonces comienza a exportar de manera limitada su producción de aceite esencial de mandarina a los Estados Unidos, siendo analizados los embarques de aceite esencial de mandarina brasileña por los laboratorios Fritzsche Brothers Inc. de New York, establecen los siguientes parámetros de calidad para el aceite esencial de mandarina brasileña.

Tabla No. 3. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de mandarina brasileña determinadas por los laboratorios Fritzsche Brothers, Inc.

Parámetro	Valor calculado
Gravedad específica a 15°/15°	0.854 a 0.858
Rotación óptica a temperatura ambiente	63° 55' a +74° 42'
Índice de refracción a 20 °C	1.4745 a 1.4763
Contenido de ésteres, calculado como Acetato de Linalílo.	1.5 a 3.5 %
Contenido de Aldehído, calculado como aldehído decílico (Método de Clorhidrato de hidroxilamina).	0.4 a 1.5 %
Residuo de evaporación	3.4 a 4.7 %.
Solubilidad	Completamente insoluble en alcohol al 90%.
Color	Verde

Fuente: Die Atherischen Ole. 3d. Ed. Vol. III

Los laboratorios Fritzsche Brothers realizan también una comparación entre el aceite esencial extraído de mandarina italiana y brasileña, descubriendo que el aceite esencial extraído de la mandarina italiana poseía un color, olor y sabor de mejor calidad que el aceite esencial extraído de la mandarina brasileña, debiéndose esto a la presencia del N-metilantranilato de metilo. Nelson realiza un segundo estudio en 1934, en su investigación compara la mandarina italiana con mandarina cultivada en Florida, Estados Unidos, y determina que las

diferencias se deben a la presencia del ácido metilantranílico en la mandarina italiana, siendo este componente el responsable de impartirle una mayor fluorescencia y olor al aceite esencial de la mandarina cultivada en Sicilia, Italia.

Nelson confirma la existencia de d-limoneno en el aceite esencial de mandarina italiana como lo habían descubierto Gildemeister y Stephan en 1897, la diferencia radicaba en que Nelson aísla al d-limoneno y establece de manera experimental un punto de ebullición para este compuesto, 175 °C - 177 °C (8).

En 1948, Kesterson y McDuff investigan dos tipos de aceites esenciales extraídos de dos variedades distintas de mandarina, las mandarinas eran cultivadas en Florida, Estados Unidos. Kesterson y McDuff realizan la extracción de los aceites esenciales variando el método de obtención, para ello al flavedo de una variedad de mandarina le realizan compresión en frío y para la otra realizan una destilación por arrastre con vapor de agua, de su estudio derivan los siguientes resultados:

Tabla No.4. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de dos variedades de mandarina cultivadas en Florida, Estados Unidos.

Parámetro	Valor calculado para el aceite esencial obtenido por compresión del flavedo en frío	Valor calculado para el aceite esencial obtenido mediante destilación por arrastre con vapor de agua.
Gravedad específica a 25°/25°	0.856	0.8407
Rotación óptica a 25° C	+91.18°	+93.67°
Rotación óptica del 10% del producto destilado.	+92.68°	No determinado
Rotación óptica del 10% del producto destilado.	+92.68°	No determinado
Índice de Refracción a 20 ° C	1.4734	1.4720
Rotación óptica del 10% del producto destilado.	+92.68°	No determinado
Índice de Refracción a 20 ° C	1.4734	1.4720
Contenido de ésteres	0.34 %	0.25 %

Parámetro	Valor calculado para el aceite esencial obtenido por compresión del flavedo en frío	Valor calculado para el aceite esencial obtenido mediante destilación por arrastre con vapor de agua.
Índice de refracción a 20 ° C del 10% destilado.	1.4711	No determinado
Contenido de aldehídos, calculado como aldehído decílico.	1.08 %	1.24 %
Residuo de Evaporación	4.53 %	0.20 %

Fuente: Method and Seeker and Kirby. 1932. U.S. Dept. Agr. Tech. Bull. No. 241. Pp. 30.

Así mismo Nelson investigador de American Perfumer en 1934, estudia la química de la mandarina Dancy que se cultivaba en Florida, identifica los siguientes compuestos como constituyentes principales del aceite esencial de esta variedad:

d-limoneno, constituyente principal del aceite esencial con un porcentaje cercano al 95.75 %, estableciendo también la rotación óptica del d-limoneno puro en un valor igual a $+94^{\circ} 30'$.

Aldehído octílico, el cual separa como compuesto de bisulfito e identifica como oximas lo que resulta en un punto de fusión experimental entre 57-58 °C.

Establece la presencia del aldehído octílico realizando una oxidación del aldehído a ácido octílico con plata y analizando las sales formadas.

Aldehído decílico, el cual aísla como compuestos de bisulfito, identificado como una oxima con un intervalo de fusión entre 66-67 °C. Establece la presencia de aldehído decílico oxidándolo a ácido decílico con plata y analizando las sales formadas (8).

Nelson y Mottern establecen que el aceite esencial de mandarina Dancy posee menor concentración de aldehído octílico y decílico que el aceite esencial de toronja que se obtiene de las variedades cultivadas en Florida (9).

Linalool y citronelol, identificados como feniluretanos, para el feniluretano derivado del linalool se obtuvo un intervalo de fusión igual a

61 ° - 62°C. El linalol puro se trato con ácido sulfúrico al 5%, resultando esto en la formación de un hidrato terpenico con intervalo de fusión igual a 116 ° - 117 ° C.

Goldsworthy y Robinson investigan la identidad de una sustancia de color amarillo que se formaba en los aceites esenciales almacenados durante algún tiempo a una temperatura de 4° C, estos cristales de color amarillo se habían separado principalmente del aceite esencial extraído de las variedades de mandarina cultivadas en Florida, Nelson la llamo *tangeritina*, pero luego de las investigaciones de Goldsworthy y Robinson se determino que la identidad de la sustancia era la 3,5,6,7,4'-pentametoxiflavona con un punto de fusión experimental de 154 ° C (10).

En 1982, Leonor R. de Vottero realiza un estudio de los componentes del aceite esencial de Limón (*Citrus aurantifolia*), Mandarina (*Citrus reticulata Blanco*) y Naranja Amarga (*Citrus aurantium L.*). Su investigación determino las siguientes propiedades químicas de los aceites esenciales extraídos: a) contenido de aldehídos expresados como citral (aceite esencial de Limón) y como decanal (aceites esenciales de cítricos restantes); b) contenido de ésteres; c) índice de ácido; d) contenido de alcoholes.

Tabla No. 5 Propiedades físicas del aceite esencial de Limón (*Citrus aurantifolia*), Mandarina (*Citrus reticulata Blanco*) y Naranja Amarga (*Citrus aurantium L.*)

Propiedades físicas	Tipo de Cítrico		
	Limón	Mandarina	Naranja
Peso específico 20 °C	0.8589	0.8560	0.8460
Rotación óptica 20 °C	+62.3°	+73.6°	+96.0°
Ind. Refracción 20 °C	1.4742	1.4765	1.4738
Residuo evap. %	3.15 %	4.95 %	2.35 %
Sol. En alcohol al 95 %	Soluble	Soluble	Soluble
Densidad del 10% destilado 20 °C	1.4718	1.4740	1.4718
Rot. óptica del 10 % del destilado	+67.3°	+74.7°	+96.8°

Giacomo, A. Di. Retamar J.A. 1982. Aceites esenciales de Especies Vegetales, Diversidad de sus Productos Químicos. Vol. I. IPNAYS Co. Argentina. Pp. 154.

Tabla No. 6 Propiedades químicas del aceite esencial de Limón (*Citrus aurantifolia*), Mandarina (*Citrus reticulata Blanco*) y Naranja Amarga (*Citrus aurantium L.*)

Propiedades químicas	Tipo de Cítrico		
	Limón	Mandarina	Naranja
Aldehídos, como citral (aceite esencial de limón) como decanal (aceite esencial de mandarina y naranja amarga).	2.63	1.21	1.50
Índice de acidez	1.81	1.68	1.42
Índice de ésteres	No determinado	5.60	2.07
Porcentaje de ésteres	3.20	1.96	0.73
Porcentaje de Alcoholes	1.20	11.86	11.68

Giacomo, A. Di. Retamar J.A. 1982. Aceites esenciales de Especies Vegetales, Diversidad de sus Productos Químicos. Vol. I. IPNAYS Co. Argentina. Pp. 154.

Para determinar la fracción de hidrocarburos monoterpénicos Retamar y Vottero realizan un tratamiento con sodio metálico y redistilando a presión reducida el aceite esencial de limón, determinaron luego su composición porcentual por cromatografía gaseosa, obtienen los siguientes resultados porcentuales: α -pineno 2.7%, β -pineno 10.1%, sabineno 1.2%, mirceno 1.8%, limoneno 73.7%, γ -terpineno 9.7%, p-cimeno (11).

Luego de haber realizado el análisis del aceite esencial extraído del flavedo de limón, mandarina y naranja amarga Retamar y Vottero realizan la identificación de los componentes principales de petitgrains de las hojas de Limón, Mandarina y Naranja amarga mediante cromatografía de gases, los resultados que obtuvieron son los siguientes:

a) Limón. *Citrus Aurantifolia*.

Componentes identificados: α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, p-cimeno, citronelal, linalol, neral, α -terpineol, geranial, acetato de geranilo, citronelol, geraniol.

b) Mandarina. *Citrus Aurantifolia Citrus reticulata Blanco*.

Componentes identificados: α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, p-cimeno, γ -terpineno, linalol, acetato de linalilo, α -terpineol, citronelol, acetato de geranilo, N-metilantranilato de metilo.

c) Naranja amarga. *Citrus aurantium L.*

Componentes identificados: α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, aldehído octílico, p-cimeno, γ -terpineno, linalol, acetato de linalilo, α -terpineol, acetato de citronelilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo, nerol, geraniol (12).

Un estudio mas reciente sobre la investigación de la composición de los aceites esenciales de cítricos y aplicaciones lo plantea Bergonzelli *et. al.* en 2003.

En su estudio sobre la caracterización de los componentes del aceite esencial de cítricos establece que el componente mayoritario de algunos cítricos como la Lima, el Limón y la Toronja es el d-limoneno, también encuentra pequeños porcentajes de monoterpenos como el α -pineno, entre otros. La identificación del componente principal de estos cítricos lo llevo a cabo mediante cromatografía de gases, su estudio determino que el d-limoneno presentaba una gran capacidad inhibitoria de crecimiento bacteriano en los alimentos, principalmente sobre las bacterias gram (+), también establece el α -pineno puede inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori* que es asociado con gastritis severas; además de incrementar la capacidad de conservación del benzoato de sodio en los alimentos (13).

Los aceites esenciales de cítricos son de interés universal, y en particular en Argentina, primer productor mundial de aceite esencial de Limón (*Citrus limonum*), por sus numerosas aplicaciones en productos alimenticios. Viturro de Galli, en 2004 realiza la evaluación de la calidad del aceite esencial obtenido mediante prensado en frío del flavedo de *Citrus Limonum* (Limón), *Citrus reticulata blanco* (Mandarina), *Citrus sinensis* (Naranja) y *Citrus paradisi* (Pomelo blanco y rosado). Estudia la composición de cada aceite esencial mediante cromatografía gaseosa capilar acoplada a espectrometría de masas, identificando el 97% de los compuestos constituyentes. El aceite esencial extraído del flavedo de la mandarina presento altos contenidos de citral, decanal y undecanal así como un bajo porcentaje de γ -terpineno. Determina además de los componentes comunes, el α -tuyeno (0.56%), generalmente no informado, así como sesquiterpenos tales como el germacreno D, β -bisaboleno, (E)- α -farnesano y perilaldehído. El aceite esencial extraído del flavedo de *Citrus paradisi* (Pomelo blanco y rosado) sin desecar presentaron porcentajes levemente superiores de aldehídos y menores de limoneno que el desecado. Viturro de Galli concluye

que en general la mayoría de los aceites esenciales extraídos mediante prensado en frío del flavedo presentan bajos niveles de α -pineno, β -pineno, sabineno y terpinoleno (14).

Es importante reconocer que la información publicada acerca de la composición química del aceite esencial extraído del flavedo de la mandarina es limitada a nivel internacional y nacional, con base en este hecho se puede mencionar cuales son los componentes de *Citrus sinensis* (Naranja) y *Citrus Swinglea glutinosa* (Limón) así como los porcentajes encontrados para cada uno de esos componentes, esto con el fin de establecer parámetros de comparación entre los aceites esenciales ya estudiados y los de esta investigación. Yanez, en 2007 estudia el aceite esencial extraído del flavedo de *Citrus sinensis* (Naranja, variedad Valenciana) mediante hidrodestilación, establece mediante cromatografía de gases de alta resolución que el componente volátil de mayor porcentaje era el monoterpeno oxigenado limoneno con un 90.93%. Determina también la presencia de monoterpenos oxigenados tales como el trans-dihidrocarvona (1.78%), de fórmula molecular $C_{10}H_{14}O_2$, así como también porcentajes menores de trans-p-mentano (1.66%), canfeno (1.62%), p-menta-1,8-dieno (0.69%), dihidromircenol (0.45%), y el isocitroneleno (0.43%) (15).

Arrazola, en 2007 realiza la caracterización del aceite esencial de la corteza del *Citrus Swinglea glutinosa* (Limón) por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El análisis de los componentes volátiles permitió la identificación de 14 componentes dentro de los cuales se destacaron por su abundancia los siguientes: β -cubebeno (26.48-28.74%), β -pineno (4.44-6.67%), elixeno (10.13-11.03%), β -cariofileno (6.30-9.55%), β -felandreno (5.99-7.86%), α -pineno (4.44-6.67%), d-limoneno (4.45-5.38%) y anozol (1.45-4.38%) (16).

B. MANDARINAS O TANGERINAS.

Las mandarinas o tangerinas se conocen en inglés como *mandarins* o *tangerins*, japonés como *mikanen*, en la India como *suntura* o *sangtra*, en italiano como *mandarino*, en Tailandia como *som khiep wan*, y en francés como *mandarine* (17).

Las mandarinas son claramente el principal cítrico en Asia y son también importantes en otras partes del mundo. Las características de las mandarinas son muy variables y muchas variedades se consideran frutos exóticos. Las mandarinas se caracterizan por tener una corteza suelta y fácil de pelar, un núcleo abierto y un color naranja más intenso que el de la mayoría de los otros cítricos. El sabor de las mandarinas es también característico y más intenso que el de la mayoría de las variedades de cítricos. A nivel mundial, las mandarinas son el cítrico más importante después de las naranjas y son más resistentes al frío que otros cítricos, pero se pueden producir severos daños al fruto por congelación debido a la característica holgura de la cáscara. La mandarina Satsuma sufre daños por congelación alrededor de los 8 °C bajo cero, mientras que otras variedades de mandarinas únicamente soportan temperaturas de alrededor de 5 a 6 °C bajo cero, que son, en todo caso, temperaturas más bajas que las que soportan otros cítricos. Las altas temperaturas durante la última parte de la temporada dan lugar a un zumo suave, con una acidez más baja (17).

En Japón, se procesa alrededor del 15% de la cosecha de mandarinas, pero en otros países el zumo de mandarina tiene menor importancia y se utiliza principalmente para mejorar el color en zumos de naranja cuyo color no es suficientemente intenso. Un ejemplo de esto es que en los Estados Unidos se añade hasta un 10% de zumo de mandarina al zumo de naranja para mejorar sus condiciones organolépticas (18).

En Guatemala la mandarina se ha convertido en una de las frutas que goza de la preferencia de los guatemaltecos por su sabor y color. Según un estudio de la empresa Sistemas de Información de Mercados dedicada al análisis

estadístico, los habitantes de la región metropolitana son los que más consumen el fruto con un 33.20%, mientras que en la región norte el consumo es de 25.10% y en Petén, territorio con condiciones ideales para el cultivo de esta fruta, se consume el 1.4% (19).

La empresa Sistemas de Información de Mercados basó el resultado en una muestra de 303 mil 307 hogares a lo largo y ancho del país. Las cifras indican que de este total, el 47% de la muestra prefiere comprar las mandarinas en los mercados o plazas, el 30% la obtiene directamente de sus cultivos, mientras que 12% las adquiere en casas particulares (personas que tienen algún puesto de venta), otro 10.7% la compra en tiendas de barrio y 1.3% la adquiere en supermercados. Datos del Proyecto de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria (PROFRUTA) del Ministerio de Agricultura (MAGA), argumentan que actualmente se siembra en 450 hectáreas en diferentes zonas del país. Según el Proyecto de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria (PROFRUTA), existe un mercado creciente tanto a nivel nacional como centroamericano, y sin importar que Guatemala también importa el fruto, se considera una buena opción para la diversificación agrícola. De acuerdo con información del Banco de Guatemala las importaciones a noviembre de 2004 sumaron 211 mil 991 kilogramos provenientes de Estados Unidos, Chile, Perú, El Salvador y España, mientras tanto se exportó un total de 32 mil 136 kilogramos hacia Honduras y El Salvador ese mismo año (19). A continuación se describen las variedades de mandarina que se cultivan en el país y que se seleccionaron para realizar el estudio de sus respectivos aceites esenciales:

1. Nombre científico: *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (20).

2. Familia: Rutáceas.

3. Nombre común: Mandarina Cleopatra, Mandarina común y Mandarina Dancy.

4. Descripción botánica.

Son árboles pequeños, hojas unifoliadas, pecíolos con pequeñas alas y articulados con la vaina de la hoja; las flores son de color blanca, simples y ubicadas en las axilas de las hojas, ovario generalmente de 10 a 14 partes; el fruto es un tipo especial de baya (hesperidio), las semillas pueden ser monoembríonicas y poliembríonicas; la raíz pivotante con muchas raíces secundarias (21).

5. Hábitat.

Nativos del sudeste asiático; ampliamente cultivado en forma comercial en los trópicos y subtropicos de ambos hemisferios. En Guatemala se cultiva de forma comercial en Escuintla y Suchitepéquez (21).

6. Agricultura.

a) Requerimientos climáticos y edáficos.

En el cultivo de Mandarina, la temperatura es el factor climático limitante que afecta el período comprendido entre la floración y la cosecha, la calidad del fruto y la adaptación de cada una de las variedades. Los cítricos necesitan de unos 1,200 milímetros de lluvia por año, sin embargo precipitaciones mayores no son problema siempre que haya un buen drenaje del suelo. Precipitaciones bajas afectan el cultivo, en esos casos el riego es fundamental como complemento de las necesidades hídricas del cultivo. La humedad relativa influye sobre la calidad de la fruta de modo que la mandarina en regiones donde la humedad relativa es alta tiende a tener cáscara delgada y suave, mayor cantidad de jugo y

de mejor calidad pero la baja humedad favorece una mejor coloración de la fruta (21).

El rango adecuado de humedad relativa puede considerarse entre 60 y 70%. Fuertes vientos provocan caída de frutos, deshidratación, roturas de ramas, caída de flores, lo cual hace necesario seleccionar bien el terreno de siembra, localizándolo en áreas con protección natural o el establecimiento de barreras rompevientos desde la siembra del cultivo. Las altitudes aptas para el cultivo de mandarina oscilan entre los 400 a 1300msnm. En este amplio rango hay que seleccionar la variedad más adecuada para cada zona. Los cítricos se adaptan a una gran diversidad de suelos, la profundidad es muy importante, ya que la parte activa del sistema radicular puede llegar hasta una profundidad de 1.5 metros, además el buen drenaje es muy importante para la productividad del cultivo prefiriéndose suelos con pH entre 5.5 a 7.0 (22).

C. USOS DE EXTRACTOS Y DE ACEITES ESENCIALES DE LA MANDARINA.

1. Usos medicinales.

Las infusiones de las hojas se pueden usar para tratar infecciones digestivas (cólico, dispepsia, gastralgia, indigestión, hipo, náusea), respiratorias (asma, bronquitis, gripe, resfrío, tos, tosferina), nerviosas (cefalea, desvanecimientos, epilepsia, excitación nerviosa, insomnio, palpitaciones), cardíacas y urinarias, hipertensión y fiebre. Las flores en jarabe o infusión se usan para tratar afecciones nerviosas (excitación, insomnio). La tintura del epicardio se usa para afecciones nerviosas. El jugo de la mandarina también puede utilizarse para tratar afecciones digestivas (diarrea, flatulencia, gastritis, tifoidea) y respiratorias (catarro, inflamación de la garganta, fiebre, resfrío, tos) y reumatismo. La decocción de cáscaras se usa para aliviar la flatulencia. El aceite

se usa en el tratamiento de bronquitis crónica, ya que no irrita los riñones y tiene buen sabor (21).

El jugo de la mandarina también puede utilizarse como tratamiento tópico de heridas, magulladuras, raspones, úlceras, tumores; en fricciones se usa para tratar reumatismo; la cáscara o corteza machacadas se aplican en cataplasma para tratar raspones y magulladuras, hemorroides y erisipela; con las flores se prepara un ungüento para afecciones de la piel (21).

2. Farmacología.

Estudios antibacterianos demuestran que el aceite esencial de mandarina es activo contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pilori* y *Salmonella*. El aceite esencial de hojas tiene actividad fungicida contra *Colletotrichum acutatum* causante de la caída prematura del fruto. Estudios farmacológicos demuestran que la decocción del fruto tiene actividad antihemorrágica sobre el sistema gastrointestinal, muestra efecto de relajación sobre el útero de rata y efecto espasmolítico de ileon de cobayo (21).

Las flores tienen actividad espasmolítica, el epicardio del fruto es un tónico amargo; ambos aumentan la contractibilidad cardíaca, mejoran la circulación coronaria y el flujo de sangre cerebral e inhiben las contracciones del músculo liso intestinal.

3. Composición química.

Toda la planta contiene aceite esencial y principios amargos (flavonoides), las hojas maduras pueden contener alcaloides, taninos y monoterpenos. Las flores contienen además glucósidos y cumarinas. La el flavedo (cáscara) del fruto contiene α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, p-cimeno, γ -terpineno, linalol, acetato de linalilo, α -terpineol, citronelol, acetato de geranilo, N-metil antranilato de metilo, entre otros componentes (21).

4. Farmacognosia.

El aceite del epicarpio (aceite de *Citrus*) es un líquido amarillo pálido, transparente o amarillo-verdoso, olor agradable a fruta, soluble en etanol al 90% (1:2), reacción neutra (pH 7), densidad 0.850-0.859, índice de refracción 1.473-1.477, el residuo al evaporarse es 2-5%, contiene compuestos carbonílicos en un rango de 0.4-1.8% (21).

5. Toxicología.

El contacto con el zumo y posterior exposición al sol puede desencadenar fenómenos de fotosensibilidad. Los extractos acuoso y etanólico de hojas, corteza y raíz (500 mg/kg) no son tóxicos a peces del genero *Mollinesia* (21).

D. ACEITES ESENCIALES.

1. Definición.

Los componentes volátiles provenientes de plantas han atraído la atención del hombre desde la antigüedad como principios aromáticos o especies de gran complejidad en su composición. El estudio de los aceites esenciales como materias primas básicas para la industria de fragancias y sabores se ha transformado en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes para muchos países. Inicialmente considerados como material de deshecho del metabolismo de las plantas, la importancia biológica de los aceites esenciales ha sido reconocida sólo recientemente (23).

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria de alimentos (condimentos y saborizantes), cosmética (perfumes y aromatizantes) y

farmacéutica. Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química:

- a) Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos),
- b) Monoterpenos,
- c) Sesquiterpenos, y
- d) Fenilpropanos (23).

En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como por ejemplo los componentes que forman parte de la fracción aromática del ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados. Los aceites pueden estar asociados formando mezclas con otros productos naturales como es el caso de las resinas y productos relacionados (23).

2. Clasificación de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo con su **consistencia** los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.) (23).

De acuerdo a su **origen** los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, y debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecidas con linalool, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes, los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, frutilla, etc.) (23).

Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con los componentes mayoritarios. Según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpénicos (por ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpénicos (por ej. copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (por ej. clavo, canela, anís, etc.) (23).

Aunque esta clasificación es muy general resulta útil para estudiar algunos aspectos fitoquímicos de los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos. Sin embargo, existen clasificaciones más complejas que tienen en cuenta otros aspectos químicos (23).

3. Distribución y estado natural.

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc. Se les puede encontrar en diferentes partes de la planta: en las hojas (ajenjo, albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana,

menta, pachulí, romero, salvia, etc.), en las raíces (angélica, cúrcuma, jengibre, sándalo, safrán, valeriana, vetiver, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, cardamomo, hinojo, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, piretro, tomillo, rosa, etc.) y en los frutos (nuez moscada, perejil, pimienta, etc.). Aunque en los aceites esenciales tanto los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos se les encuentran en forma libre, más recientemente se han investigado los que están ligados a carbohidratos, ya que se considera que son los precursores inmediatos del aceite esencial como tal (23).

4. Componentes principales del aceite esencial de cítricos.

a) Generalidades.

Existen marcadas diferencias en la composición de los aceites esenciales cítricos provenientes de las distintas partes de la planta; así, del naranjo amargo se obtiene el petitgrain de las hojas, constituido casi totalmente de compuestos oxigenados y en donde predomina el acetato de linalilo; el aceite esencial de las flores, cuyos componentes oxigenados de mayor proporción son los alcoholes monoterpénicos, y el aceite esencial de la cáscara de los cítricos, donde los hidrocarburos terpénicos sobrepasan el 90% y el valor olfativo está ligado a la pequeña fracción en la que participan aldehídos y ésteres. Del mandarino la industria extrae dos aceites esenciales diferentes: el petitgrain de las hojas, caracterizado por el alto contenido de N-metilantranilato de metilo, y el aceite esencial de la cáscara con elevado contenido de hidrocarburos terpénicos y su grupo odorante formado por la asociación de aldehídos, alcoholes y ésteres, incluyendo una pequeña cantidad de N-metilantranilato de metilo (24).

La calidad de estos aceites esenciales cítricos es particularmente apreciada por su contenido en componentes oxigenados dado que ellos confieren el sabor y calidad olfativa característica, estimándose precisamente su valor comercial por la riqueza de estos constituyentes (aldehídos, alcoholes y ésteres monoterpénicos,

principalmente), que han repercutido en la perfumería y cosmética, donde la nota específica no solo esta dominada por los compuestos más abundantes sino también por los constituyentes menores que participan en la armonía olfativa del conjunto (25).

Los aceites de cítricos se encuentran principalmente en sacos ovalados presentes en el flavedo o parte coloreada de la cáscara y actúan como barrera tóxica natural para muchos microorganismos e insectos. Más del 90% del aceite esencial de cítricos lo compone el d-limoneno, un sesquiterpeno, y se encuentran cantidades traza de otros monoterpenos y sesquiterpenos como el mirceno. En los aceites esenciales de naranja se han encontrado 111 constituyentes volátiles, incluidos 5 ácidos, 26 alcoholes, 25 aldehídos, 16 ésteres, 6 cetonas y 31 hidrocarburos. Los componentes no volátiles representan alrededor del 1.5% de los aceites de naranja, entre los que se encuentran las ceras, cumarinas, flavonoides, carotenoides, tocoferoles, ácidos grasos y esteroides. El aceite de pomelo se caracteriza por la presencia de nootkatona, que proporciona al pomelo su sabor y aroma característico. Este aceite esencial esta constituido por 20 alcoholes, 14 aldehídos, 13 ésteres, 3 cetonas, 14 monoterpenos y sesquiterpenos.

La concentración de nootkatona aumenta conforme madura la fruta. La fracción no volátil del aceite esencial de pomelo representa alrededor del 7% del mismo e incluye cumarinas, flavonoides, tocoferoles y ceras. Se cree que los aceites de limón contienen alrededor de un 2% de compuestos no volátiles, principalmente en forma de cumarinas, así como 18 alcoholes, 16 aldehídos, 11 ésteres, 3 cetonas, 4 ácidos y 23 hidrocarburos. En los aceites de lima se han encontrado 12 alcoholes, 7 aldehídos, 4 ésteres, 1 cetona y 22 hidrocarburos, así como un 7% de compuestos no volátiles, principalmente cumarinas (26).

Los aceites esenciales de mandarinas contienen cantidades significativas (4%) de un compuesto no volátil distintivo llamado tangeritina, así como 24 alcoholes, 11 aldehídos, 4 ésteres, 2 cetonas, 7 ácidos, 24 hidrocarburos y 2 éteres.

Estudios mas detallados utilizando cromatografía de gases han demostrado que el aceite esencial de mandarina posee los siguientes compuestos como componentes mayoritarios: α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, p-cimeno, γ -terpineno, linalol, acetato de linalilo, α -terpineol, citronelol, acetato de geranilo, N-metil antranilato de metilo (26).

E. MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES.

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante diferentes métodos como: prensado (expresión), destilación por arrastre con vapor de agua, extracción con disolventes volátiles, enflorado y con fluidos supercríticos.

1. Prensado (Expresión). En la aplicación de este método el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite, recolectándose y filtrándolo para su purificación. Este método es utilizado comúnmente para la extracción de aceites esenciales de cítricos (23).

2. Destilación por arrastre con vapor de agua. En la aplicación de este método la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, el aceite esencial así es arrastrado y posteriormente condensado, recolectado y separado de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para aceites esenciales fluidos tales como los de cítricos, siendo este el método preferido para obtener materia prima para la industria de perfumería, alimentos, pesticidas, etc. Su selección se hace en base a que es un

método económico que permite la obtención de un aceite esencial con alta pureza y muy importante porque no requiere tecnología sofisticada (27).

3. Extracción con disolventes volátiles. En el método de **extracción con disolventes volátiles**, la muestra seca y molida se coloca en contacto con disolventes tales como etanol absoluto, cloroformo, éter etílico, etc. Estos disolventes solubilizan el aceite esencial pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final un aceite esencial impuro. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes y porque se obtienen aceites esenciales impuros, como ya se menciono, además del riesgo de explosión e incendio de los disolventes orgánicos volátiles cuando se usan en grandes volúmenes (28).

4. Enflorado. En este método el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con una grasa. El aceite esencial se solubiliza en la grasa que actúa como vehículo extractor, obteniéndose inicialmente una mezcla (concreto) de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios fisicoquímicos. En general se recurre a agregar etanol absoluto caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático puro (absoluto). Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa, siendo esta la principal desventaja para su utilización (23).

5. Extracción con fluidos supercríticos. En la aplicación de este método el material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo CO₂), los aceites esenciales así solubilizados son arrastrados por el fluido supercrítico que actúa como disolvente extractor, la

presión del sistema se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, obteniéndose un aceite esencial cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción. Aunque presenta varias ventajas tales como un rendimiento alto de extracción, es inocuo para el medio ambiente, el disolvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar así como las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes del aceite esencial, el equipo requerido es relativamente costoso ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (29).

F. CROMATOGRAFÍA DE GASES.

1. Fundamentos y principios básicos.

La idea de esta técnica se basa en la volatilización de la muestra y su posterior inyección en la cabeza de una columna cromatográfica. Para la elución de la muestra se usa un gas inerte como fase móvil, de esta manera la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, simplemente transporta el analito a través de la columna (30).

Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC):

a. Cromatografía gas-sólido (GSC): la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos se produce mediante adsorción. En la cromatografía gas-sólido la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular (30).

b. Cromatografía gas-líquido (GLC): la fase estacionaria son moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un gas inerte. Esta es la que se usa más ampliamente. La GC es un sistema compuesto de gas portador, sistema de inyección de muestra, columna (generalmente dentro de un horno), y detector (30).

2. Instrumentación.

a. Gas portador: debe ser un gas inerte para evitar que reaccione con el analito o con la columna. Los gases de uso más común son helio, nitrógeno, hidrógeno o argón. Se controla su entrada en el sistema mediante manómetros para garantizar un flujo constante y estable. Las presiones de entrada son desde 10 a 25 psi.

b. Sistema de inyección de muestra: el analito se inyecta usando una microjeringa o un automuestrador en una cámara de vaporización instantánea sellada por una junta de silicona (Septum). El analito debe ser introducido en pequeñas cantidades para asegurar el mejor análisis, si la columna es ordinaria el volumen es de unos 20 microlitros; si la columna es capilar el volumen es menor de 10-3 microlitros. Se usan divisores de flujo a la entrada de la columna para desechar analito hasta alcanzar estos volúmenes. Las muestras sólidas deben introducirse en forma de disolución, el disolvente se pierde en la cámara de vaporización y así no interfiere en la elución (30).

c. Columnas y sistemas de control de temperatura: la longitud de las columnas es de 2 a 50 metros, de acero inoxidable, vidrio, sílice o teflón. Las columnas se enrollan de forma helicoidal para encajar en el horno. La temperatura influye directamente sobre la separación de los analitos, se necesita una precisión de décimas de grado. La temperatura depende del punto de ebullición del analito,

así pues se ajusta la temperatura un poco por encima del punto de ebullición. Si son varios analitos se debe ajustar la rampa de temperatura, que consiste en aumentar la temperatura de forma gradual o por etapas hasta separar los analitos. El problema de subir demasiado la temperatura es que aumenta la velocidad de elución y también aumenta el riesgo de descomposición del analito.

Existen dos tipos de columnas:

- Empaquetadas o de relleno.
- Tubulares abiertas o capilares (mas eficaces y rápidas) (30).

d. Detectores:

i) Detector de ionización de llama: es un quemador de hidrógeno/oxígeno donde se mezcla el eluyente con hidrógeno. En esta cámara se produce una chispa para causar ignición, los compuestos orgánicos al quemarse se pirolizan y producen iones y electrones, aprovechando que se convierte en conductor se induce una corriente eléctrica, para detectar iones desprendidos. Es un detector de masa, puesto que aproximadamente el numero de iones desprendidos es igual al numero de carbonos transformados (30).

ii) Detector de conductividad térmica: se basa en el calentamiento de una resistencia mediante el uso de una corriente eléctrica. Esta resistencia tiene una temperatura que depende del gas circundante. La resistencia es un hilo que puede ser de tungsteno, platino u oro (30).

iii) Detector termoiónico: Se usa para compuestos fosforados y nitrogenados, su funcionamiento es parecido al detector de ionización de llama, el eluyente se mezcla con hidrógeno y se quema. El gas se pasa alrededor de una esfera de rubidio calentado a 600° C y sometida a 180 V, creando un plasma en el

cual se forman gran cantidad de iones que producen una corriente medible, la intensidad es proporcional al número de iones formados y así se determina la concentración o porcentaje del analito (30).

iv) Detector de captura de electrones: se basa en la emisión de una partícula β por parte de átomos como el ^{63}Ni o tritio, el electrón emitido ioniza el gas portador y emite una ráfaga de electrones, esta ráfaga es sensible a una corriente eléctrica que se puede medir. En el caso de especies orgánicas los electrones son absorbidos, disminuyendo la intensidad de la corriente (30).

v) Detector de emisión atómica: el gas se introduce en un plasma de helio inducido por microondas, la alta temperatura ioniza toda la muestra y se miden los espectros de emisión mediante un espectrofotómetro acoplado al sistema (30).

e. Columnas:

i) Columnas de relleno: Son tubos de vidrio, metal inerte o teflón de 2 o 3 metros de longitud y 2 a 4 milímetros de diámetro interno el material de relleno del interior consiste en partículas esféricas para interactuar con el analito.

Normalmente se usan diatomeas puesto que es un material ideal para la adsorción.

ii) Columnas capilares:

WCOT: Pared recubierta: son tubos capilares donde la pared interna esta recubierta con una fina capa de fase estacionaria.

SCOT (soporte recubierto): tienen una capa en su lado interno de superficie adsorbente donde se acopla la fase estacionaria. Tienen mayor capacidad de carga (30).

f. Fase estacionaria: Una fase estacionaria líquida inmovilizada requiere:

- Características de reparto,
- Baja volatilidad,
- Baja reactividad, y
- Estabilidad térmica (30).

G. LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS (EM) COMO COMPLEMENTO DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG).

La cromatografía de gases en sí, es esencialmente una técnica de separación. Sin embargo, puede convertirse en un instrumento analítico con el auxilio de la espectrometría de masas. El punto de acoplamiento de ambas técnicas está en utilizar el espectrómetro de masas como un tipo de detector muy selectivo en el cromatógrafo de gases. De tal manera que no solamente se obtiene una separación de los componentes de la mezcla sino además, para cada una de ellas, se tiene información referente a su peso molecular y un patrón de fragmentación estructural característico de cada componente (31).

H. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SU PAPEL EN EL ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES.

En relación con el estudio de aceites esenciales, el acoplamiento de la Cromatografía de Gases a la Espectrometría de Masa (CG-MS) es el que ha recibido mayor atención desde su introducción ya que permite obtener el espectro de masas de cada componente eluído. Se obtiene el dato de su peso molecular e información estructural. Existen bases de datos con los espectros de masas de muchos componentes, por lo cual el índice de Kovats (determinado en

dos columnas de diferente polaridad) y el espectro de masas son criterios para la identificación química de muchos de los componentes de un aceite esencial, sean monoterpenos u otros tipos de sustancias características de dichos aceites. En el acoplamiento de la cromatografía de gases a la espectrometría de masas, la técnica de ionización más utilizada es la de impacto electrónico (EI). Sin embargo, la técnica de ionización química (CI) tiene cada vez más aplicaciones, por la mayor información que permite obtener. Un ejemplo de esto lo presenta la identificación de fenilpropanos ya que por la presencia de su anillo aromático presentan espectros de masa con iones moleculares intensos, lo que facilita la determinación de su peso molecular. En el caso de compuestos con grupos carboxilo e hidroxilo es conveniente derivatizarlos para obtener sustancias más volatilizables y térmicamente más estables, ya que esto facilita por ejemplo su análisis en mezclas mediante cromatografía de gases o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (32).

IV. JUSTIFICACIÓN

La industria de los cítricos en Guatemala se encuentra en constante crecimiento debido principalmente a la demanda de limón, naranja, toronja y recientemente de mandarina. En Guatemala se cultivan algunas variedades de mandarina, entre las cuales destacan las variedades *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy). Teniendo en cuenta que en general el flavedo de la mandarina se desecha, existe la posibilidad de viabilizar de manera comercial la extracción del aceite esencial del mismo mediante arrastre con vapor de agua.

La importancia de llevar a cabo la extracción del aceite esencial del flavedo de las variedades de mandarina mencionadas, radica en la amplia gama de aplicaciones que estos aceites pueden tener en la industria de Guatemala. Entre las aplicaciones más importantes se pueden mencionar: la industria alimenticia, la industria médica, además de contar con aplicabilidad en la industria de perfumería y cosméticos.

En la industria alimenticia los aceites esenciales extraídos del flavedo de las variedades de la mandarina son importantes, ya que pueden ser utilizados como agentes antimicrobianos, actuando al mismo tiempo como saborizantes y preservantes contra la descomposición bacteriana. Así mismo también puede utilizárseles en el sector de la salud, ya que pueden ser desarrolladas formulaciones que permitan la fabricación de medicamentos genéricos de bajo costo con eficientes actividades contra microorganismos patógenos para el ser humano, siendo esto un beneficio para la población guatemalteca. Un ejemplo de esto es que el aceite esencial extraído del flavedo de la mandarina puede ser utilizado como agente antibacteriano contra algunas cepas patógenas para el ser

humano, entre las cepas bacterianas que pueden mencionarse están las siguientes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori* y *Salmonella* (13,21).

Existe también la posibilidad de fraccionar los componentes del aceite esencial extraído del flavedo de la mandarina para utilizarlos como materia prima para la obtención de otras sustancias importantes, tal es el caso de la utilización del d-limoneno y p-cimeno para la síntesis de pesticidas que pueden controlar el crecimiento de larvas de insectos dañinos para cultivos del país, teniendo estos pesticidas la ventaja de ser de origen natural y por lo tanto totalmente biodegradables.

También es importante reconocer que el desarrollo industrial de la extracción del aceite esencial del flavedo de la mandarina cultivada en Guatemala, podría establecer fuentes de trabajo e ingresos económicos para un sector de la población.

V. OBJETIVOS

A. General.

Identificar y cuantificar de forma relativa los componentes principales del aceite esencial del flavedo (cáscara) de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.

B. Específicos.

1. Obtener muestras frescas de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).
2. Obtener muestras frescas del flavedo de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).
3. Obtener el aceite esencial del flavedo de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación).
4. Separación, identificación y cuantificación relativa de los componentes del aceite esencial del flavedo de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.

VI. HIPÓTESIS

No se plantea hipótesis debido a que es un estudio exploratorio de la cantidad de aceite esencial que posee el flavedo de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) así como la identidad y concentración relativa de los principales componentes del aceite esencial de cada una de las variedades de mandarina seleccionadas para el estudio.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo.

1. Población.

Variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) cultivadas en la Finca La Providencia ubicada en el municipio de Río Bravo, del Departamento de Suchitepéquez a una altitud de 460 metros sobre el nivel del mar.

2. Muestra.

125g de flavedo fresco de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) cultivadas en la Finca La Providencia ubicada en el municipio de Río Bravo, del Departamento de Suchitepéquez a una altitud de 460 metros sobre el nivel del mar.

B. Recursos.

1. Materiales.

a) Reactivos.

Reactivo	Cantidad	Calidad	Concentración
Etanol	1 L	A.C.S.	99.9 %
Acetona	1 L	A.C.S.	95.0 %
Pentano	1 L	A.C.S.	99.0 %
2-bromoclobenceno	1.0 g	A.C.S.	99.0 %

b) Estándares primarios.

Estándar	Cantidad	Calidad	Concentración
α -pineno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
β -pineno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
Mirceno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
Limoneno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
p-cimeno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
γ -terpineno	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
Linalol	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
acetato de linalilo	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
α -terpineol	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
Citronelol	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
acetato de geranilo	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %
N-metilantranilato de metilo	0.001 L	A.C.S.	> 99.0 %

c) Cristalería.

1 balón corning de 500 ml y condensador 24/40 esmerilado.

1 agitador de Vidrio.

21 viales de 1mL color ámbar.

3 beacker de 25mL.

1 columna para extracción de aceites esenciales (ver anexo No. 2).

d) Equipo.

1 rotavapor.

1 balanza electrónica (0.0001 g) Marca Perkin Elmer 9200.

1 manta de calentamiento.

e) Equipo instrumental.

Cromatógrafo de gases marca Hewlett-Packard F & M, modelo 770.

Columna, diámetro interior 4mm, longitud 1.20m.

Soporte, cromosorb C silanizado, malla 100/120.

Fase estacionaria FFAP, 5%.

Gas acarreador, nitrógeno.

Flujo, 5 ml/min.

Temperaturas, horno 90 °C, bloque de inyección 170 °C, detector 200 °C.

Espectrómetro de masas Hewlett-Packard JL234.

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

Temperatura de interfase: 280 °C.

Temperatura de fuente: 200 °C.

Calibrante: Perfluorotributilamina PTBFDA (FC-43)

m/z: 69 (100%), 219 (50%) y 502 (2.5%).

2. Humanos.

a) Estudiante: Jorge Arturo Mazariegos Monterroso.

b) Asesores de Tesis: Licda. Diana Pinagel Cifuentes.

M. Sc. Silvia Echeverría.

C. Método.

1. Diseño de investigación.

Se realizó un muestreo probabilístico de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy), cultivadas en la Finca La Providencia ubicada en el municipio de Río Bravo, del Departamento de Suchitepéquez a una altitud de 460 metros sobre el nivel del mar. El muestreo consistió en la recolección de frutos en completo estado de madurez de cada una de las variedades de mandarina bajo estudio, luego se extrajo mediante hidrodestilación el aceite esencial del flavedo fresco de cada una de ellas, cuantificando el porcentaje de aceite esencial obtenido. El aceite esencial extraído de cada variedad de mandarina se analizó en duplicado por medio de

cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas lo que permitió, separar, identificar y cuantificar los componentes principales de los mismos.

a) Muestra (materia prima).

Para realizar el estudio de composición química del aceite esencial de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) se seleccionó como muestra el flavedo fresco de cada una de las variedades de mandarina cultivadas en la Finca La Providencia ubicada en el municipio de Río Bravo, del Departamento de Suchitepéquez a una altitud de 460 metros sobre el nivel del mar.

b) Variables de interés.

Componentes principales del aceite esencial del flavedo fresco de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Las condiciones de separación y cuantificación de los componentes principales están sujetas a ser modificadas en caso la metodología teórica no sea la óptima para separar, identificar y cuantificar los principales componentes presentes en cada uno de los aceites esenciales extraídos de las variedades de mandarina bajo estudio.

c) Análisis de resultados.

i) Identificación de los componentes principales del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Los componentes del aceite esencial de cada una de las variedades de mandarina fueron identificados por medio de cromatografía de gases acoplada a

espectrometría de masas, estableciendo así los tiempos de retención y espectros de masas de los principales componentes presentes en cada variedad de mandarina y comparándolos con los tiempos de retención y los espectros de masas de cada uno de los estándares o patrones utilizados, también se realizó la respectiva comparación del espectro de masas de cada componente identificado con el de referencia de la base datos Wiley275.

Para el estudio se utilizarán los siguientes estándares: α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, p-cimeno, γ -terpineno, linalol, acetato de linalilo, α -terpineol, citronelol, acetato de geranilo y N-metil antranilato de metilo con un mínimo de pureza del 99%.

ii) **Cuantificación del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).**

Cuantificación del contenido de aceite esencial de cada una de las variedades de mandarina. Esto se realizó utilizando la siguiente expresión:

$$C = (P_A / P_P) 100\% \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

C: contenido de aceite esencial (% p/p).

P_A: Masa de aceite esencial extraído (g).

P_P: Masa del flavedo fresco de mandarina (g).

D. Procedimiento.

1. Recolección de las variedades de mandarina cultivadas en la Finca La Providencia ubicada en el municipio de Río Bravo, del Departamento de Suchitepéquez a una altitud de 460 metros sobre el nivel del mar por el Proyecto

de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria (PROFRUTA) del Ministerio de Agricultura (MAGA).

2. Molienda del flavedo fresco de cada una de las variedades de mandarina: utilizando una cuchilla esterilizada para pelar cada una de las mandarinas y disponer del mismo en trozos pequeños, luego en un molino de aspas disminuir el tamaño del flavedo hasta aproximadamente 1mm.

a) Extracción del aceite esencial.

1. Se pesan 125g de flavedo fresco de mandarina.
2. Se colocan los 125g de flavedo fresco de mandarina previamente molido en un balón de 1000mL y se adicionan aproximadamente 600mL de agua destilada con algunos núcleos de ebullición.
3. Armar el aparato para hidroddestilación como se muestra en el Anexo No. 1.
4. Se calienta la mezcla hasta ebullición y se mantiene de esa manera durante 4 horas.
5. El aceite esencial extraído de cada una de las variedades de mandarina se cuantifica mediante la ecuación 1 y se procede a almacenarlo en la refrigeradora a 4 °C en viales de vidrio color ámbar con tapón de rosca. El aceite esencial puede ser almacenado durante 6 meses (12) siempre y cuando el vial se encuentre bien cerrado y a 4 °C (33).

b) Determinación de los componentes del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.

1. Elaborar disoluciones patrón de cada uno de los estándares de interés, pesando 0.0250g de cada patrón con un mínimo de pureza del 99% en un balón de 25mL y luego aforando con etanol absoluto. Agite vigorosamente cada disolución patrón para homogeneizarla. Almacene a 4 °C.

2. Vierta 5mL de cada disolución patrón elaborada en el inciso anterior y agregue a la misma 0.0250g de 2-bromoclorobenceno (BCB) como patrón interno en un balón de 100mL, afora la mezcla de estándares con etanol absoluto, esta mezcla servirá para establecer el perfil cromatográfico de referencia con el cual será comparado el aceite esencial extraído de cada una de las variedades de mandarina. La mezcla elaborada debe poseer los 12 estándares de interés.

3. Realizar la calibración del sistema de detección llevando a cabo la determinación del intervalo de linealidad para los patrones de los compuestos bajo estudio.

4. Inyectar por duplicado cada una de las disoluciones patrón elaboradas a partir de cada uno de los estándares puros, con esto se establecerán los tiempos de retención y espectros de masa de referencia para cada uno de los estándares o patrones.

4. Inyectar por duplicado cada uno de los aceites esenciales extraídos del flavedo las variedades de mandarina y establezca los tiempos de retención para cada uno de los componentes mayoritarios.

5. Establezca los espectros de masas para cada uno de los componentes mayoritarios en cada uno de los aceites esenciales extraídos mediante un barrido completo en un intervalo de masas entre 40 y 250 u.m.a. a una velocidad de 1,2 scaneos/s.

6. Para realizar la separación, identificación y cuantificación relativa de los componentes de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* se miden 0.2µL de aceite esencial y se diluyen en 1mL de diclorometano, de esta dilución se inyecta 0.6µL al cromatógrafo (HP 5890) acoplado a un espectrómetro de masas (HP 5890 II) con las siguientes

condiciones de operación: Columna (HP 1, capilaridad 30m x 0.25mm diámetro interno x 0.25 μ m espesor, se utilizó Helio como gas portador, a flujo constante de 1mL/min, presión de 14 libras por pulgada cuadrada, y una velocidad lineal de 19cm/s. La temperatura inicial fue de 50°C durante 3 minutos, con una rampa de 20°C/min. hasta 280°C y 15 min. a 280°C, temperatura del inyector 250°C, temperatura de interfase del inyector 280°C. Tiempo de corrida 60 minutos.

VIII. RESULTADOS

Tabla No. 7. Rendimiento de extracción promedio del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Muestra	Tiempo (min)	Peso muestra flavedo fresco (g)*	Peso de aceite esencial (g)*	Rendimiento de extracción (%)*
<i>Citrus Reshni</i> (Mandarina Cleopatra)	180	127.5±3.54	1.0401±0.036	0.82±0.0059
<i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común)	180	133.25±2.47	0.9430±0.0076	0.71±0.0074
<i>Citrus reticulata</i> Blanco o <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy)	180	123.0±0	0.8941±0.077	0.66±0.021

Fuente: Resultados experimentales obtenidos del arrastre con vapor de agua (hidrodestilación Neoclevenger) del flavedo fresco de las variedades de mandarina bajo estudio. -LIPRONAT-

* Los valores de peso muestra flavedo fresco (g), peso de aceite esencial (g) y el rendimiento de extracción (%) incluyen el valor de la media ± la desviación estándar

Tabla No. 8. Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra).

Número de Pico	Componente	Tiempo de retención (Rt) Minutos \pm 0.05	Concentración relativa (%)
1	α -pineno	9.80	0.20
2	β -pineno	11.53	0.15
3	β -mirceno	11.99	2.23
4	n-octanal	12.55	1.70
5	Limoneno	13.60	36.03
6	l-limoneno	13.76	38.07
7	γ -terpineno	14.79	8.46
8	α -terpinoleno	15.52	0.70
9	linalool	16.45	7.20
10	4-terpineol	19.65	0.61
11	α -terpineol	20.21	1.80
12	n-decanal	20.45	0.42
13	citronelol	21.36	0.35
14	perilaldehído	23.33	0.46
15	carvacrol	23.93	1.30
-	p-cimeno	No detectado	No detectado
-	acetato de Linalilo	No detectado	No detectado
-	acetato de geranilo	No detectado	No detectado
-	N-metilantranilato de metilo	No detectado	No detectado

Fuente: Base de datos Wiley275.

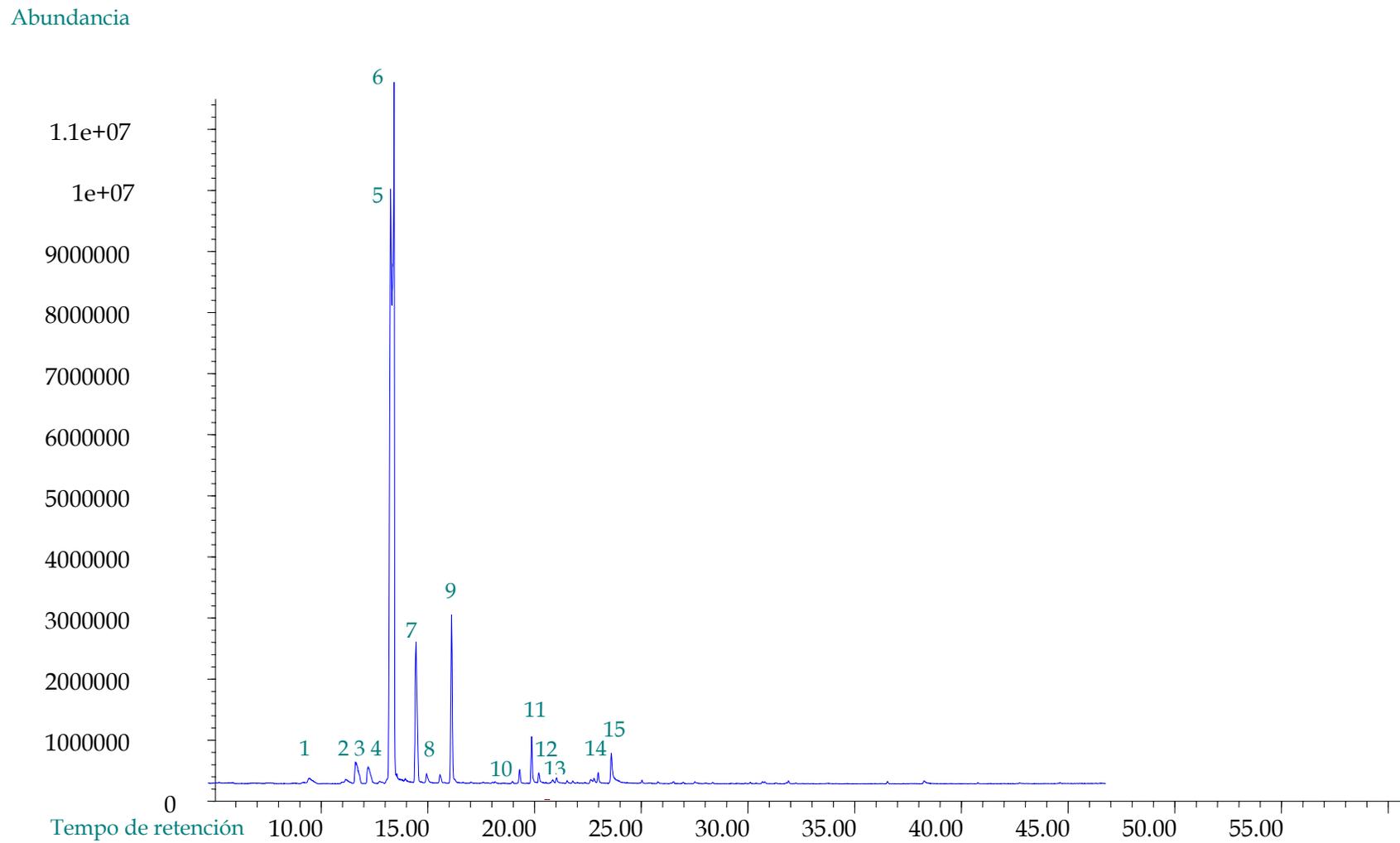


Figura No. 1. Cromatograma del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra).

Tabla No. 9. Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reticulata* (Mandarina Común).

Número de Pico	Componente	Tiempo de retención (Rt) Minutos \pm 0.05	Concentración relativa (%)
1	α -pineno	9.79	0.30
2	β -pineno	11.53	0.25
3	β -mirceno	11.99	1.43
4	limoneno	13.60	79.07
5	γ -terpineno	14.78	16.03
6	4-terpineol	19.65	0.52
7	α -terpineol	20.21	1.45
8	n-decanal	20.45	0.31
-	l-limoneno	No detectado	No detectado
-	citronelol	No detectado	No detectado
-	perilaldehído	No detectado	No detectado
-	carvacrol	No detectado	No detectado
-	n-octanal	No detectado	No detectado
-	p-cimeno	No detectado	No detectado
-	acetato de Linalilo	No detectado	No detectado
-	linalool	No detectado	No detectado
-	acetato de geranilo	No detectado	No detectado
-	N-metilantranilato de metilo	No detectado	No detectado

Fuente: Base de datos Wiley275.

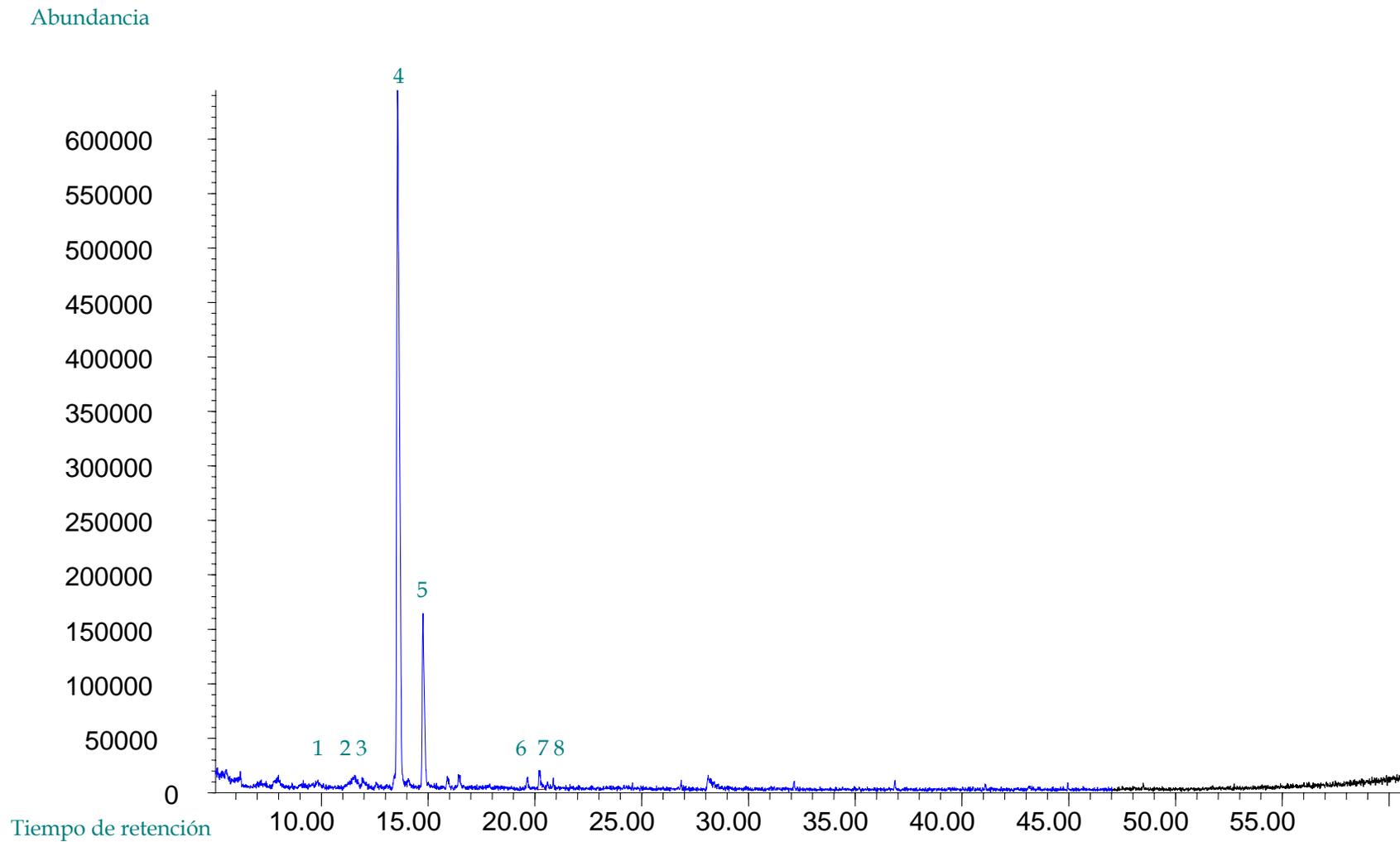


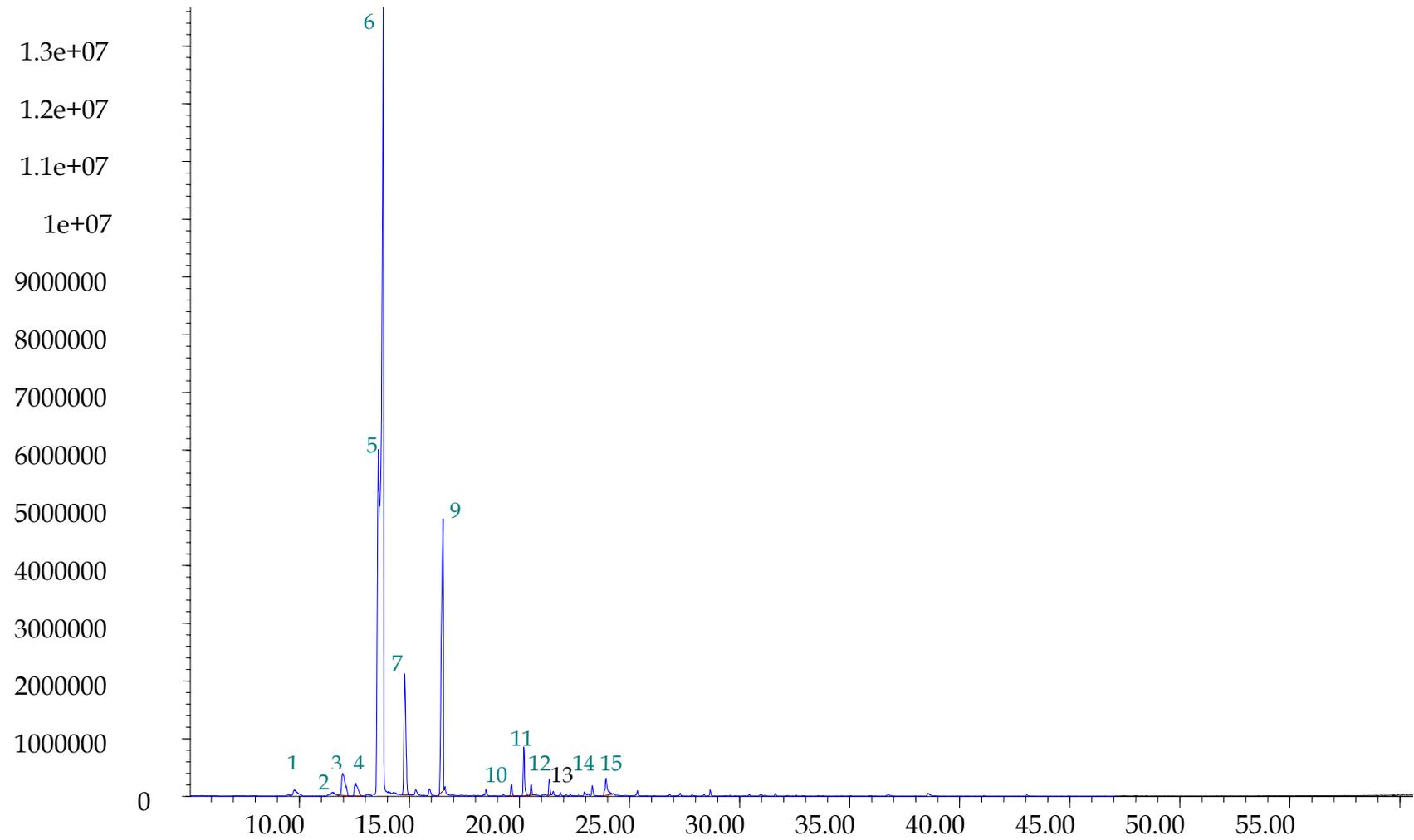
Figura No. 2. Cromatograma del aceite esencial del flavedo de *Citrus reticulata* (Mandarina Común).

Tabla No. 10. Componentes principales cuantificados en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Número de Pico	Componente	Tiempo de retención (Rt) Minutos \pm 0.05	Concentración relativa (%)
1	α -pineno	9.82	0.20
2	β -pineno	11.53	0.15
3	β -mirceno	11.96	2.20
4	n-octanal	12.55	0.60
5	limoneno	13.62	30.63
6	l-limoneno	13.79	40.62
7	γ -terpineno	14.79	5.69
8	α -terpinoleno	15.32	0.20
9	linalool	16.50	14.43
10	4-terpineol	19.65	0.50
11	α -terpineol	20.21	1.85
12	n-decanal	20.45	0.42
13	citronelol	21.36	0.62
14	perilaldehído	23.33	0.35
15	carvacrol	23.93	0.96
-	p-cimeno	No detectado	No detectado
-	acetato de Linalilo	No detectado	No detectado
-	acetato de geranilo	No detectado	No detectado
-	N-metilantranilato de metilo	No detectado	No detectado

Fuente: Base de datos Wiley275.

Abundancia



Tiempo de retención

Figura No. 3. Cromatograma del aceite esencial del flavedo de *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Tabla No. 11. Componentes principales cuantificados en muestra de Sabor de Mandarina No. 100.

Número de Pico	Componente	Tiempo de retención (Rt) Minutos \pm 0.05	Concentración relativa (%)
1	α -pineno	9.80	1.76
2	β -pineno	11.53	1.65
3	β -mirceno	11.63	1.16
4	p-cimeno	13.06	2.66
5	limoneno	13.24	74.38
6	γ -terpineno	14.40	16.82
7	α -terpinoleno	15.53	0.72
8	N-metilantranilato de metilo	27.60	0.82
-	l-limoneno	No detectado	No detectado
-	4-terpineol	No detectado	No detectado
-	α -terpineol	No detectado	No detectado
-	n-octenal	No detectado	No detectado
-	n-decanal	No detectado	No detectado
-	citronelol	No detectado	No detectado
-	perilaldehído	No detectado	No detectado
-	carvacrol	No detectado	No detectado
-	p-cimeno	No detectado	No detectado
-	acetato de Linalilo	No detectado	No detectado
-	acetato de geranilo	No detectado	No detectado
-	linalool	No detectado	No detectado

Fuente: Base de datos Wiley275.

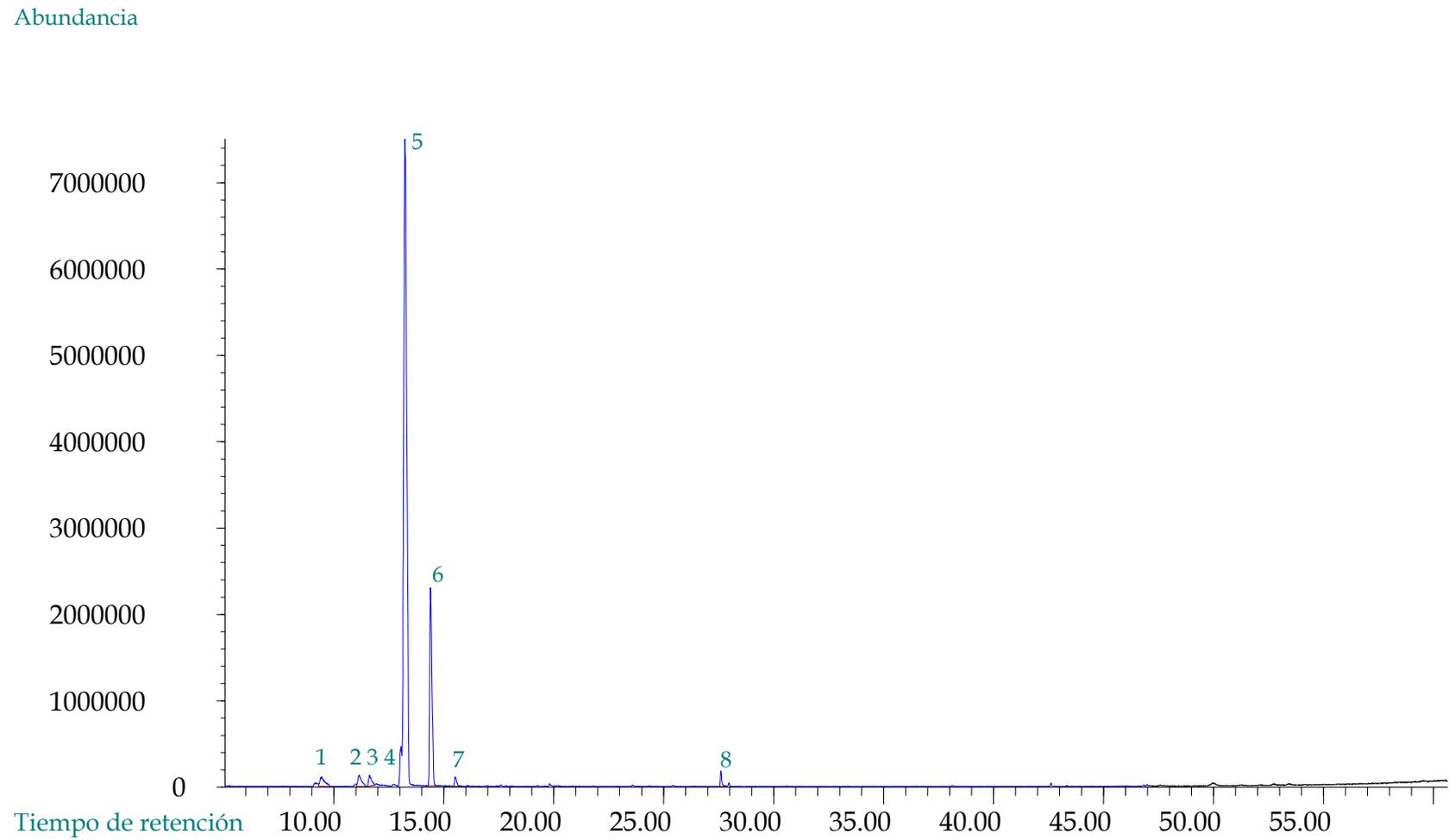


Figura No. 4. Cromatograma del aceite esencial del Sabor de Mandarina No. 100.

Tabla No. 12. Componentes traza identificados en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Componente	Tiempo de retención (Rt) Minutos \pm 0.05	Concentración relativa (%)		
		<i>Citrus reshni</i>	<i>Citrus reticulata</i>	<i>Citrus Tangerina</i>
acetato 9-decenilico	11.10	0.08	0.06	0.09
Sabineno	11.50	0.02	0.04	0.05
α -terpineno	13.11	0.05	0.07	0.03
1-octanol	15.28	0.03	0.07	0.04
(+)-2-careno	15.93	0.22	0.28	0.23
l-linalool	16.59	0.06	0.08	0.05
6-octenal [Citronela]	18.49	0.02	0.03	0.12
6-octen-1-ol	21.37	0.10	0.11	0.05
2,6-octadienal [Z-Citral]	21.86	0.09	0.07	0.10
2-ciclohexen-1-ona	22.13	0.05	0.07	0.04
2,6-octadien-1-ol [trans-Geraniol]	22.32	0.03	0.02	0.04
α -citral [Geranial]	22.96	0.09	0.07	0.08
δ -elemeno	25.37	0.10	0.06	0.10

Fuente: Base de datos Wiley275.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La extracción del aceite esencial del flavedo fresco de las variedades de mandarina *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* se realizó en duplicado por medio de destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación) durante 3 horas. Los aceites esenciales fueron recibidos durante la destilación en pentano, la selección de este disolvente respondió a la facilidad con la que es separado del aceite esencial mediante rotavapor a 30°C. Al obtener el aceite esencial de cada variedad de mandarina se pudo observar un aceite esencial incoloro y de aroma característico. Después de esto, los aceites esenciales extraídos fueron almacenados en viales ámbar y refrigerados a 4°C para garantizar de ese modo su estabilidad química hasta realizar el análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Los rendimientos de extracción del aceite esencial del flavedo fresco de las variedades de mandarina bajo estudio presentaron valores por encima de los valores reportados en estudios anteriores a aceites esenciales de cítricos, siendo los valores promedio de extracción los siguientes; para *Citrus reshni* $0.82 \pm 0.0059\%$ p/p, para *Citrus reticulata* $0.71 \pm 0.0074\%$ p/p y $0.66 \pm 0.021\%$ p/p para *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina*. En estudios de cítricos efectuados con anterioridad se obtuvieron rendimientos de extracción para el aceite esencial de Limón (*Citrus Aurantifolia*), mandarina común (*Citrus reticulata*) y naranja amarga (*Citrus aurantium* L.) con un porcentaje entre de 0.2 y 0.5% p/p (12). Los altos porcentajes de extracción se deben a que las mandarinas de cada variedad seleccionadas para el estudio se encontraban en completo estado de madurez y a que el método de extracción del aceite esencial de mandarina fue fundamentalmente diferente, ya que para esta investigación el método de extracción consistió en una destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación) y en los estudios anteriores el método aplicado fue el

prensado en frío. Los altos rendimientos de extracción también pueden deberse al completo estado de madurez, este hecho encuentra justificación en un estudio efectuado al limón (*Citrus Swinglea*) en el 2005, en este estudio se pudo establecer mediante análisis cromatográficos de alta resolución que las diferentes etapas de maduración influyen en la cantidad y calidad del aceite esencial que se puede extraer de cítricos (37).

Los resultados de los análisis cromatográficos de los aceites esenciales extraídos del flavedo fresco de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata Blanco* o *Citrus tangerina* se muestran en las tablas 8, 9 y 10, respectivamente, así como los cromatogramas en las figuras 1, 2 y 3. Se observaron algunas variaciones en la composición de volátiles de los aceites esenciales extraídos, estos resultados muestran la presencia de 28 componentes, 7 de los cuales se encuentran en todas las variedades de mandarina, siendo estos los siguientes; (α -pineno, β -pineno, limoneno, γ -terpineno, 4-terpineol, α -terpineol y n-decanal), los cuales se pueden considerar como mayoritarios.

Entre estos componentes destacan los siguientes hidrocarburos monoterpénicos por su abundancia, el limoneno con 79.07% en *Citrus reticulata*, 36.16% en *Citrus reshni* y 30.63% en *Citrus reticulata Blanco*, también el γ -terpineno con 16.03% en *Citrus reticulata*, 8.46% en *Citrus reshni* y 5.69% en *Citrus reticulata Blanco*, por último el derivado oxigenado (alcohol) α -terpineol con 1.85% en *Citrus reticulata Blanco*, 1.80% en *Citrus reshni* y 1.45% en *Citrus reticulata*.

Se debe mencionar también que para la cuantificación de los componentes principales de los aceites esenciales de las variedades de mandarina investigadas no fue necesaria la elaboración de curvas de calibración con estándares de alta pureza, ya que la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas permitió establecer los tiempos de retención, así como la concentración relativa para cada uno de los componentes y más importante aún, esta técnica instrumental permitió establecer la identidad de cada uno de los componentes

principales, incluso los que se encontraban a niveles traza, esto mediante la comparación del espectro de masas obtenido experimentalmente para cada componente versus el espectro de masas de referencia de la base de datos Wiley275 (ver anexos 5 al 16 y 20 al 43), estableciéndose de esa manera la identidad y concentración relativa de cada uno de los componentes presentes en las variedades de mandarina investigadas.

El análisis cromatográfico permitió establecer una comparación entre la composición de las diferentes variedades de mandarina analizadas, se estableció que algunos componentes se encuentran ausentes en *Citrus reticulata*, tal es el caso del n-octanol, l-limoneno, α -terpinoleno, linalool, citronelol, perilaldehído y carvacrol, también se encontró que en las tres variedades de mandarina estudiadas las concentraciones relativas de α -pineno y β -pineno (0.20%-0.30% y 0.15%-0.25% respectivamente) son menores que las reportadas en otras variedades de cítricos, tal es el caso del estudio realizado por Díaz *et. al.* donde se caracterizó el aceite esencial de *Citrus Swinglea*, reportando el estudio concentraciones relativas mayores al 24% para el α -pineno y β -pineno, este hecho es de importancia ya que estos componentes son de interés comercial (37). También se llevo a cabo el análisis de una muestra del Sabor de Mandarina No. 100, se encontraron algunas diferencias en cuanto a composición ya que al comparar la identidad de los componentes presentes en la muestra del Sabor de Mandarina No. 100 con respecto a la composición de los aceites esenciales de las variedades *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata Blanco* o *Citrus tangerina*, los resultados indican diferencias en la concentración relativa del α -pineno y β -pineno ya que el Sabor de Mandarina No. 100 presentó concentraciones relativas mas elevadas de estos componentes que el aceite esencial de las variedades de mandarina. En el Sabor de Mandarina No. 100 también se encontró una concentración relativa de N-metilantranilato de metilo igual a 0.82%, este componente volátil no se encontró en ninguna de las variedades de mandarina caracterizadas, esto es relevante ya que este

componente volátil es considerado como un parámetro de calidad de los aceites esenciales provenientes de variedades de cítricos.

En las variedades de mandarina *Citrus reshni*, *Citrus reticulata*, *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* y muestra de Sabor de Mandarina No. 100 existen algunos componentes que no fue posible detectar, tal es caso del acetato de linalilo y acetato de geranilo, pero se detectó la presencia de algunos componentes a niveles tan bajos que puede catalogárseles como trazas, siendo éstos los siguientes; acetato 9-decenílico, sabineno, α -terpineno, 1-octanol, (+)-2-careno, l-linalool, 6-octenal (Citronela), 6-octen-1-ol, 2,6-octadienal (Z-Citral), 2-ciclohexen-1-ona, 2,6-octadien-1-ol, (trans-geraniol), α -citral (Geranial) y δ -elemeno. Estos compuestos oxigenados (aldehídos, cetonas, ésteres y alcoholes) y sus bajas concentraciones relativas pueden ocasionar las diferencias sutiles en el aroma del aceite esencial de cada variedad de mandarina estudiada, ya que cada uno de los aceites esenciales extraídos presentaba un aroma ligeramente diferente. Al haber identificado y cuantificado los componentes mayoritarios y minoritarios del aceite esencial de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* se puede argumentar que éstos representan un recurso natural renovable y que aun no se explota en Guatemala, siendo también una gran oportunidad para el país en el mercado de los productos forestales no maderables, ya que al fraccionar los aceites esenciales se puede obtener limoneno, linalool, α -terpineol y citronelol que pueden ser usados como aromatizantes en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética del país; en la agronomía como pesticidas; en la industria de agentes de limpieza como desinfectantes y en la industria farmacéutica como principios activos y como saborizantes en la industria alimenticia, entonces al explotar este recurso natural del país se pueden establecer fuentes de investigación y desarrollo.

X. CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron altos rendimientos de extracción para los aceites esenciales de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina*, ya que normalmente los rendimientos de extracción se encuentran entre 0.2 y 0.5% p/p y los valores de extracción experimentales son de $0.82 \pm 0.0059\%$ p/p, $0.71 \pm 0.0074\%$ p/p y $0.66 \pm 0.021\%$ p/p respectivamente.
2. Los altos porcentajes de extracción en los aceites esenciales se debieron a que las mandarinas seleccionadas se encontraban en completo estado de madurez y a que se utilizó el flavedo fresco.
3. Los aceites esenciales extraídos del flavedo fresco de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* tienen en común la presencia de 7 componentes; α -pineno, β -pineno, limoneno, γ -terpineno, 4-terpineol, α -terpineol y n-decanal, los cuales debido a su abundancia se pueden considerar como mayoritarios.
4. Los hidrocarburos monoterpénicos con concentraciones relativas mayoritarias son el Limoneno con 79.07% en *Citrus reticulata*, 36.16% en *Citrus reshni* y 30.63% en *Citrus reticulata* Blanco, así como el γ -terpineno con 16.03% en *Citrus reticulata*, 8.46% en *Citrus reshni* y 5.69% en *Citrus reticulata* Blanco, y el derivado oxigenado α -terpineol con 1.85% en *Citrus reticulata* Blanco, 1.80% en *Citrus reshni* y 1.45% en *Citrus reticulata*.
5. En la variedad de mandarina *Citrus reticulata* no se detectó concentración relativa de n-octanol, l-limoneno, α -terpinoleno, linalool, citronelol, perilaldehído y carvacrol.
6. Se comprobó que los aceites esenciales de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* son ricos en algunos componentes tales como el limoneno, γ -terpineno y α -terpineol entre otros, esto permite considerar a los aceites esenciales extraídos como un ingrediente básico

para la industria de alimentos como saborizantes, en farmacéutica como principios activos y en productos limpieza como desinfectantes.

7. En los aceites esenciales de las variedades de mandarina investigadas se detectó e identificó la presencia de algunos componentes a niveles tan bajos que puede catalogárseles como trazas, siendo éstos los siguientes; acetato 9-decenílico, sabineno, α -terpineno, 1-octanol, (+)-2-careno, l-linalool, 6-octenal (Citronela), 6-octen-1-ol, 2,6-octadienal (Z-Citral), 2-ciclohexen-1-ona, 2,6-octadien-1-ol, (trans-Geraniol), α -Citral (Geranial) y δ -elemeno, estos componentes volátiles presentaron una pequeña variación en cuanto a concentración relativa para cada una de las variedades de mandarina lo que puede contribuir directamente al aroma característico de cada aceite esencial.

XI. RECOMENDACIÓN

1. Bergonzelli *et. al.* en 2003 caracteriza los aceites esenciales de cítricos tales como la lima, el limón y la toronja en estos aceites esenciales encuentra que el componente mayoritario era el d-limoneno, también cuantifica pequeños porcentajes de monoterpenos como el α -pineno que presentaba actividad inhibitoria contra las cepa bacteria *Helicobacter pylori*, ya que esta cepa es patógenas para el ser humano se plantea utilizar los aceites esenciales extraídos de *Citrus reshni*, *Citrus reticulata* y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* para realizar pruebas antibacterianas contra las cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginos* y *Salmonella* para establecer su actividad antimicrobiana.

XII. REFERENCIAS

1. K. P., Adam, Zapp J. 1998. *Phytochemistry*. 48 (6). Pp 953.
2. Fuller, J. Harry. 1974. *Botánica*. Quinta Edición. Nueva Editorial Interamericana S. A. de C. V. México. Pp 470.
3. *Arch. Pharmaceutical*. 1897. Vol 235. Pp. 583.
4. *J. Prakt. Chemical*. (1900). 62. Pp. 135.
5. *Citrus and Related Genera*. 1914-1917. Bailey Standard Cyclopedia of Horticultura. The Macmillan Co. New York.
6. Tanaka, Cf. *Principal Citrus Fruit of the World*. 1924. Vol 1. Kyushu Imp. Univ. Dep. Arg. Bull. Pp 20.
7. Webber and Barchelor. 1943. *Citrus Industry*. Vol. 1 Univ. Calif. Press. Pp 999.
8. *American Perfumer*. 1934. Vol. 29. Pp. 347.
9. Method and Seeker and Kirby. 1932. United States Dept. Agr. Tech. Bull. No. 241. Pp.1-30.
10. *Ind. Eng. Chem*. 1934. Vol 26. Pp 636.
11. Guenther, Ernest. 1949. *The Essential Oils, Individual Essential Oils of the Plants Families Rutaceae and Labiatae*. D. Van Nostrand Company, Inc. Vol. III New York. Pp. 333-344.
12. Giacomo, A. Di. Retamar J.A. 1982. *Aceites esenciales de Especies Vegetales, Diversidad de sus Productos Químicos*. Vol. I. IPNAYS Co. Argentina. Pp. 149-162.
13. Bergonzelli G.E, Donnicola D., Porta N y Corthésy-Theulaz., 2003, Essential oils as components of diet-based approach to management of *Helicobacter* Infection. *AAC*. Vol. 47, Pp 3240-3246.
14. http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UV/AVAILABLE/0301107-141814
15. <http://www.portales.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/>
16. <http://www.unicordoba.edu.co/revistas/rta/documentos/>

17. Herman, José. 1982. Farmacotecnia Teórica y Práctica. 1ra. Edición. Tomo V. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México. Pp 1474-1475.
18. Austin, T., George. 1988. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Quinta Edición, Primera edición en español. Tomo II. McGraw Hill/Interamericana de México, S.A. de C.V. Pp 573-578.
19. <http://www.profruta.gob.gt/>
20. http://variedadesdemandarina/CITRUS_RETICULATA.htm
21. Cáceres, Armando. 1996. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Primera Edición. Editorial Universitario. Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp 150-155, 228-230, 283-286.
22. Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT. 1988. Aceites esenciales y oleorresinas: estudio de distintos productores y de mercados importantes. Ginebra. Pp 23-25.
23. Martínez M. Alejandro. 2001. Aceites Esenciales. Facultad de Química Farmacéutica. Medellín. Universidad de Antioquia. Pp. 1-12.
24. F. La Face. 1968. Ess. Deriv. Agrum. 38. Pp 191-192
25. Vottero, Leonor. 1978. Essential Deriv. Agrum. 48. Pp. 150-156.
26. Kimball, Dan A. 2002. Procesado de Cítricos. 1ra. Edición. Editorial Acribia S.A. España. Pp 234.
27. J. Chem. Educ. 1980. 57. Pp. 138.
28. J. Chem. Educ. 1991. 68. Pp. 946.
29. Yonei, Y and col. Journal of Supercritic Fluids. 1995. 8. Pp. 156-156.
30. Skoog, Douglas A. 2001. Análisis Instrumental. Quinta Edición, McGraw Hill/Interamericana de España S.A. Páginas consultadas 759-782.
31. Gasco, Luis. 1969. Teoría y Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa. Ediciones J.E.N. España. Pp 234.
32. Crippen, Raymond C. 1973. Identification of Organic Compounds with Aid of Gas Chromatography. Mc Graw-Hill. USA. Pp 123.

33. Freeman, R.R. 1979. Teoría y Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa. Ediciones J.E.N. España. Pp. 234
34. <http://webbook.nist.gov/chemistry>
35. http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi
36. http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UV/226107-100108
37. Díaz, Carlos, et. al. 2005. Caracterización del aceite esencial de la corteza del Limón Swinglea por medio de CG-EM. Temas Agrarios Vol. 10:(1). Pp 22-28.

XIII. ANEXOS

ANEXO No. 1



Figura No. 5
APARATO PARA DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA
CLEVINGER.

Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT-.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de
Guatemala.

ANEXO No. 2

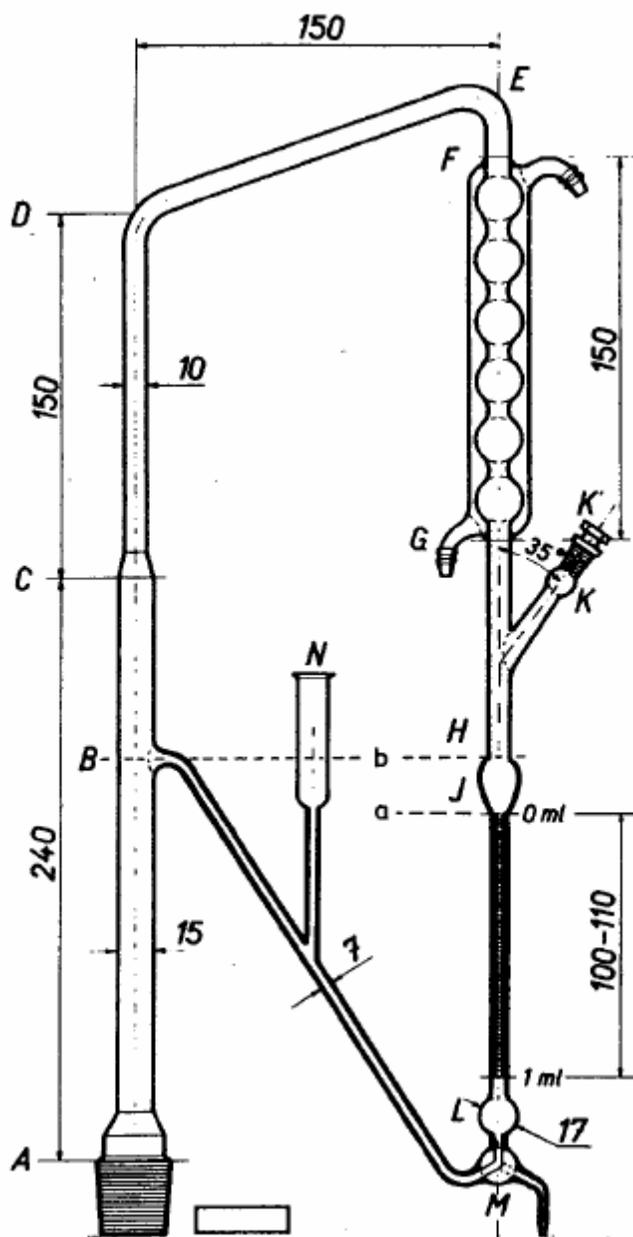


Figura No. 6
COLUMNA PARA LA OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES TIPO
CLEVANGER.

ANEXO No. 3

Tabla No. 13

ALGUNAS FASES ESTACIONARIAS COMUNES EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

FASE ESTACIONARIA	NOMBRE COMERCIAL	TEMPERATURA MAXIMA °C	APLICACIONES
Polidimetilsiloxano	OV-1, SE-30	350	Hidrocarburos; aromáticos polinucleares, esteroides.
Poli(fenilmetildifenil)siloxano	OV-3, SE-52	350	Esteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides; drogas, compuestos halogenados.
Poli(fenilmetil)siloxano	OV-17	250	Drogas; esteroides, pesticidas, glicoles.
Poli(trifluoropropildimetil)siloxano	OV-210	200	Aromáticos clorados; nitrocompuestos aromáticos, alquilsustituídos.
Polietilenglicol	Carbowax	250	Acidos libres; alcoholes, esterres, aceites esenciales, glicoles.
Poli(dicianoalildimetil)siloxano	OV-275	240	Acidos grasos.

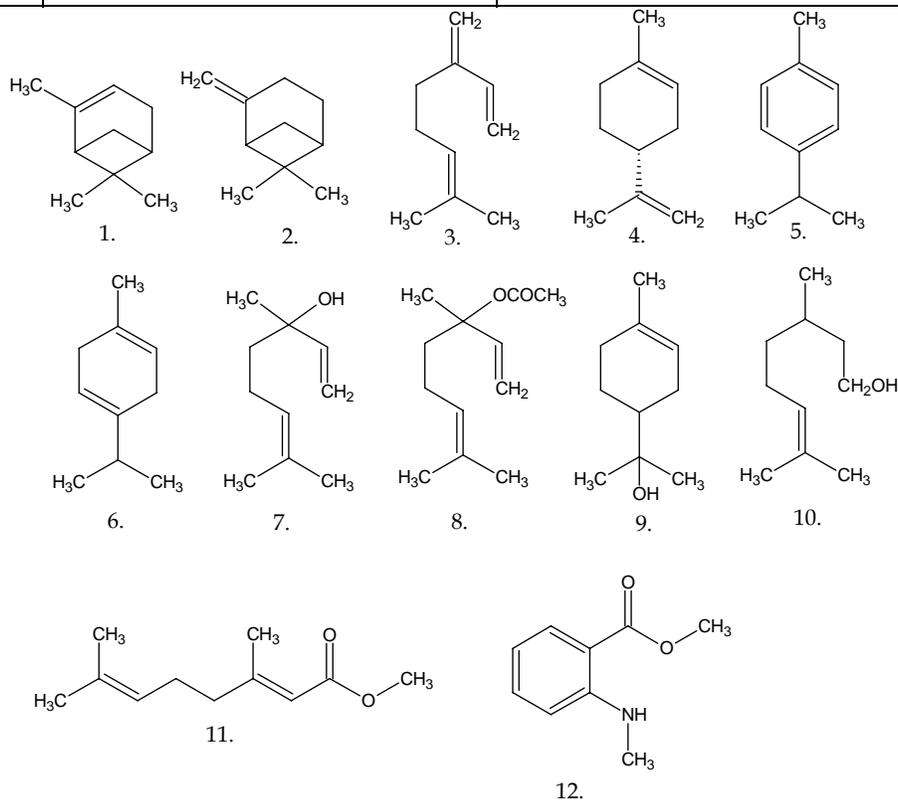
Fuente: Skoog, Douglas A. 2001. Análisis Instrumental. Cuarta edición, McGraw Hill/Interamericana de España S.A. Página consultada 774.

ANEXO No. 4

Tabla No. 14

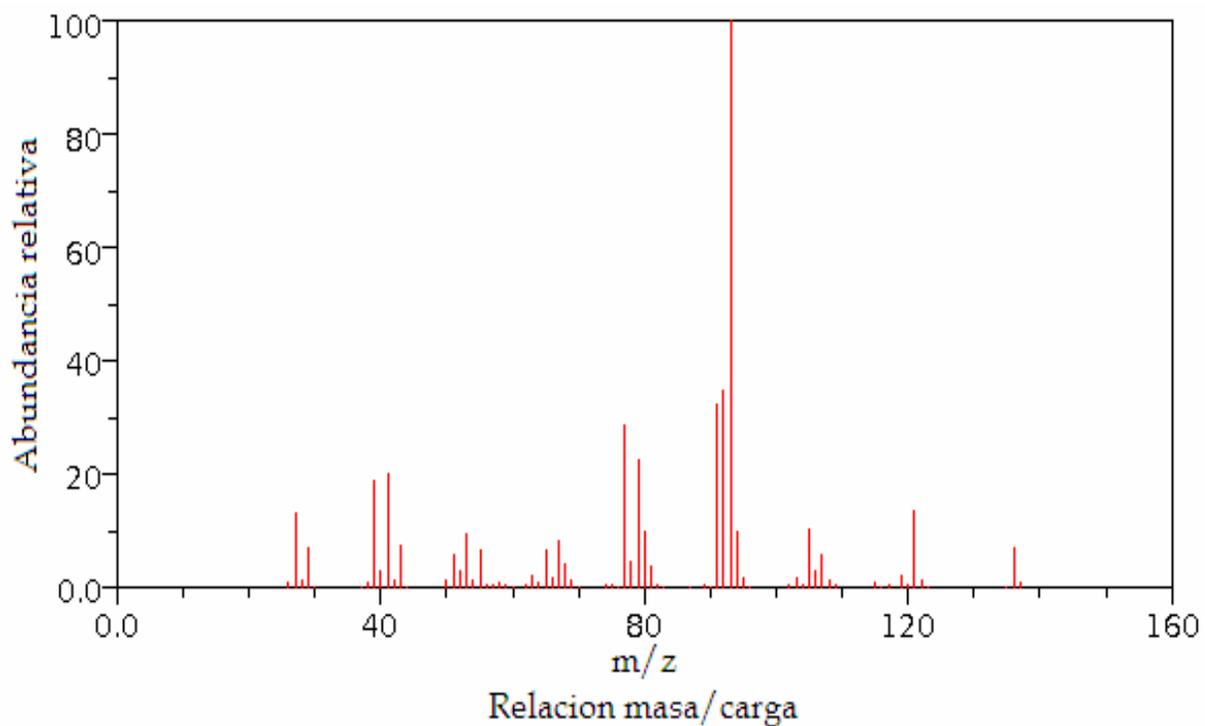
LISTADO DE NOMBRES Y ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LOS COMPONENTES VOLATILES DE LOS ACEITES ESENCIALES PRESENTES EN LA MANDARINA

No.	Nombre Común	CAS No.
1	α -pineno	80-56-8
2	β -pineno	127-91-3
3	Mirceno	123-35-3
4	(+)-Limoneno	5989-27-5
5	p-cimeno	99-87-6
6	γ -terpineno	99-85-4
7	Linalol	78-70-6
8	acetato de linalilo	115-95-7
9	α -terpineol	8006-39-1
10	Citronelol	106-22-9
11	acetato de geranilo	105-87-3
12	N-metilantranilato de metilo.	85-91-6



ANEXO No. 5

Espectro No.1

Espectro de masas de α -pineno

Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

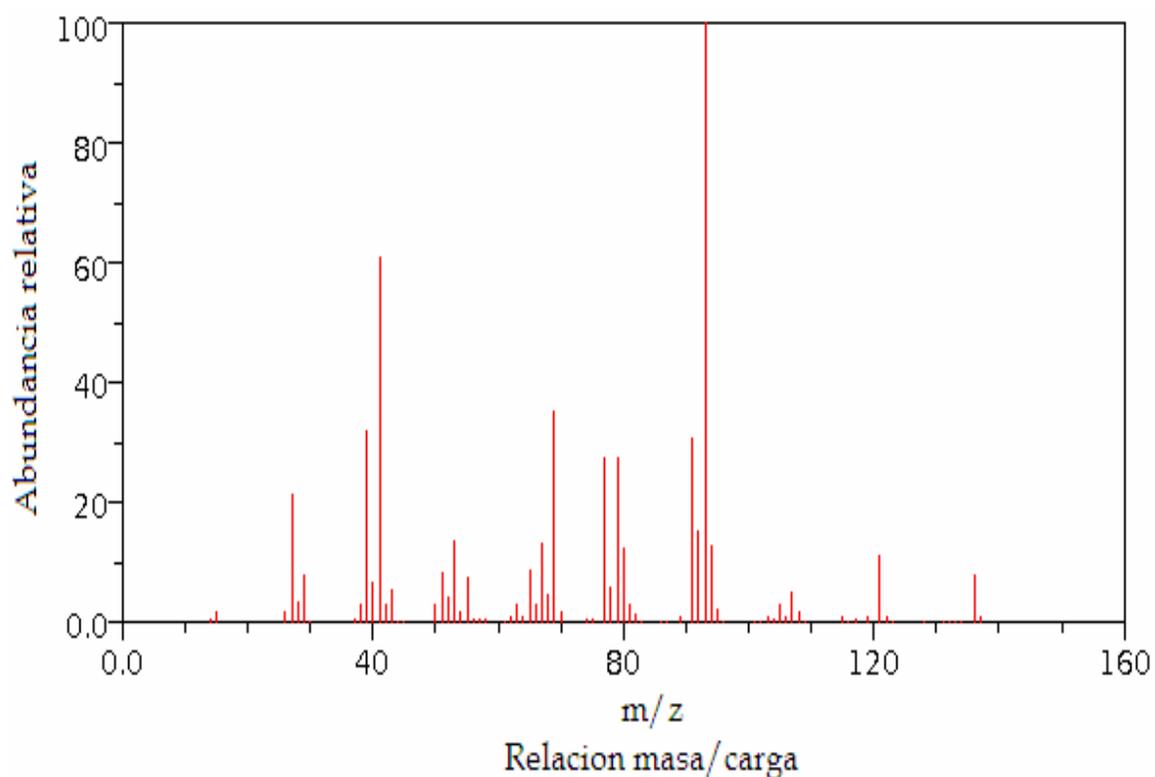
Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 6

Espectro No.2

Espectro de masas del β -pineno

Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

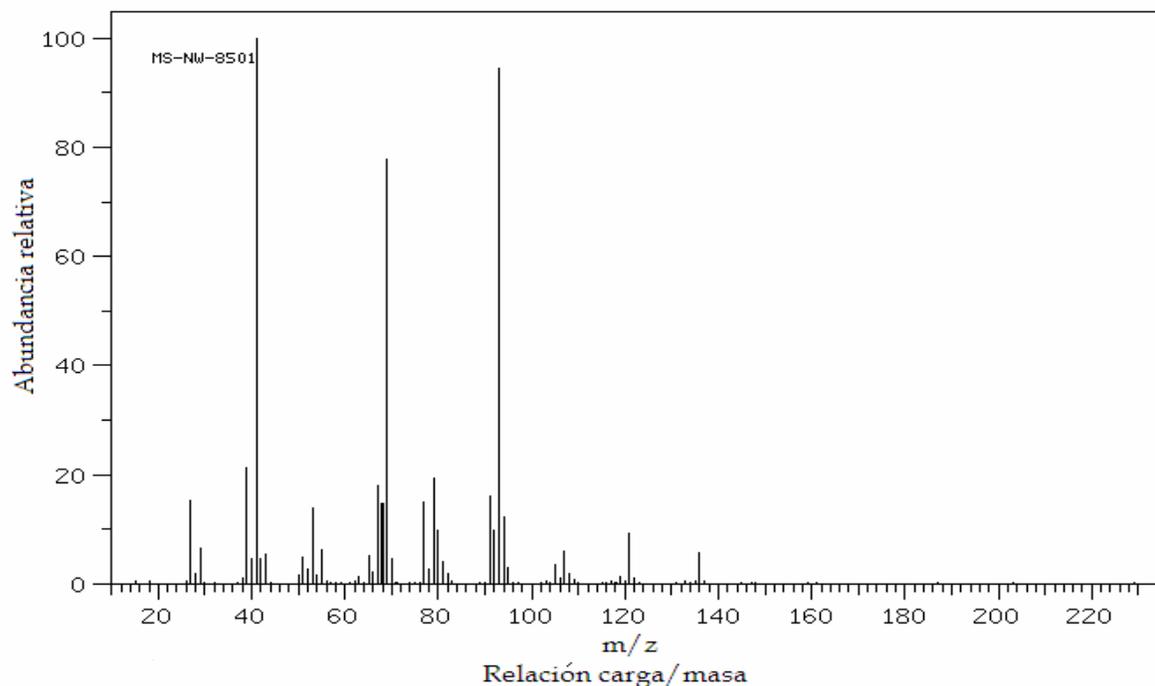
Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No.7

Espectro No. 3.

Espectro de masas del mirceno.



Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

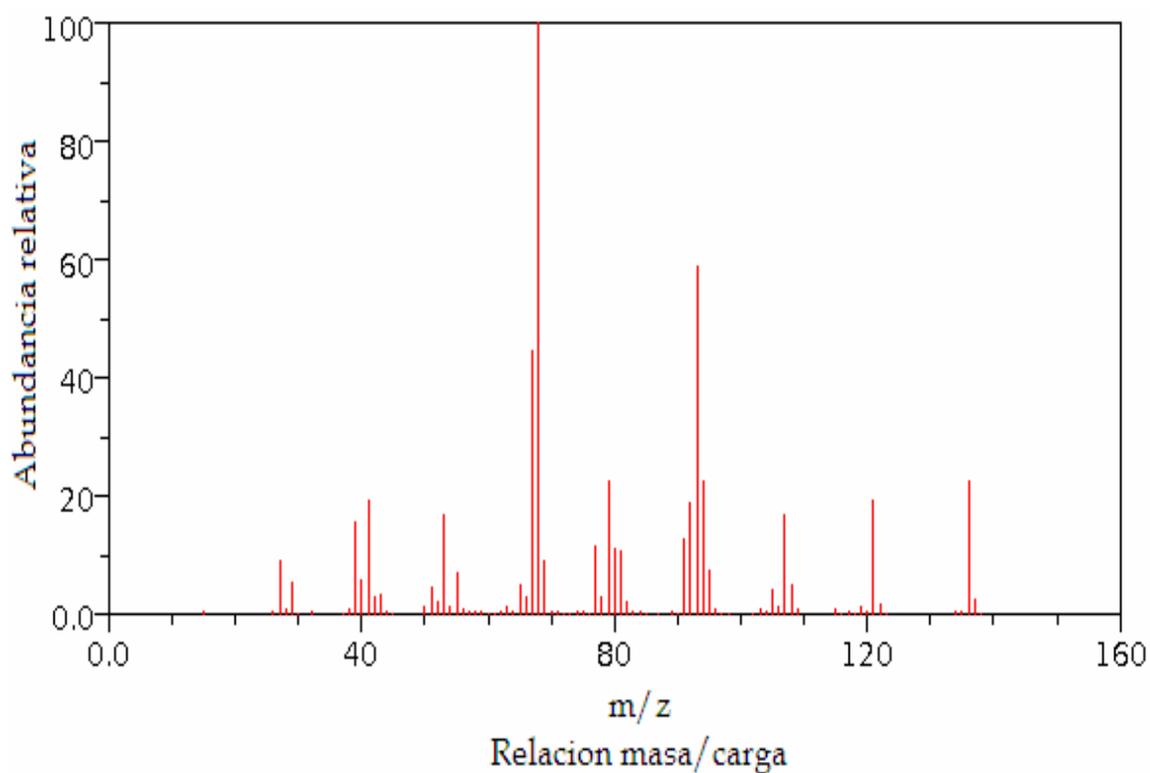
Temperatura de la muestra: 140°C.

Temperatura de fuente: 260°C.

ANEXO No. 8

Espectro No. 4

Espectro de masas del d-limoneno.



Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

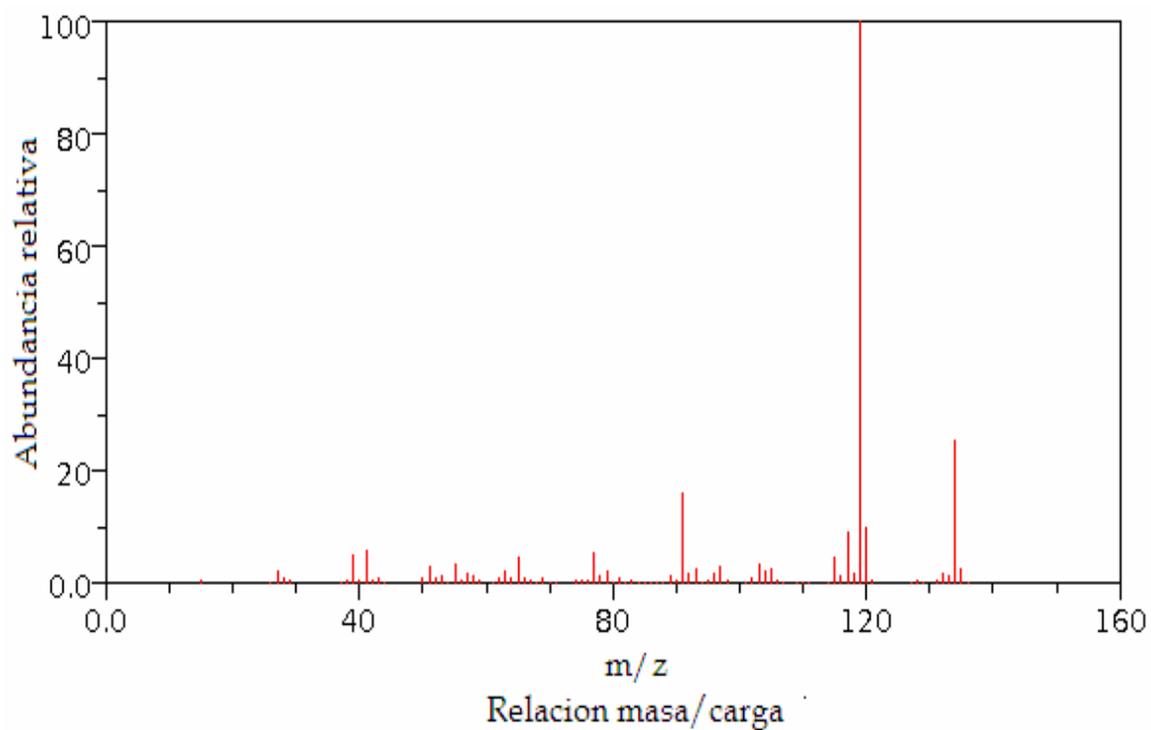
Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 9

Espectro No.5

Espectro de masas del p-cimeno.

Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

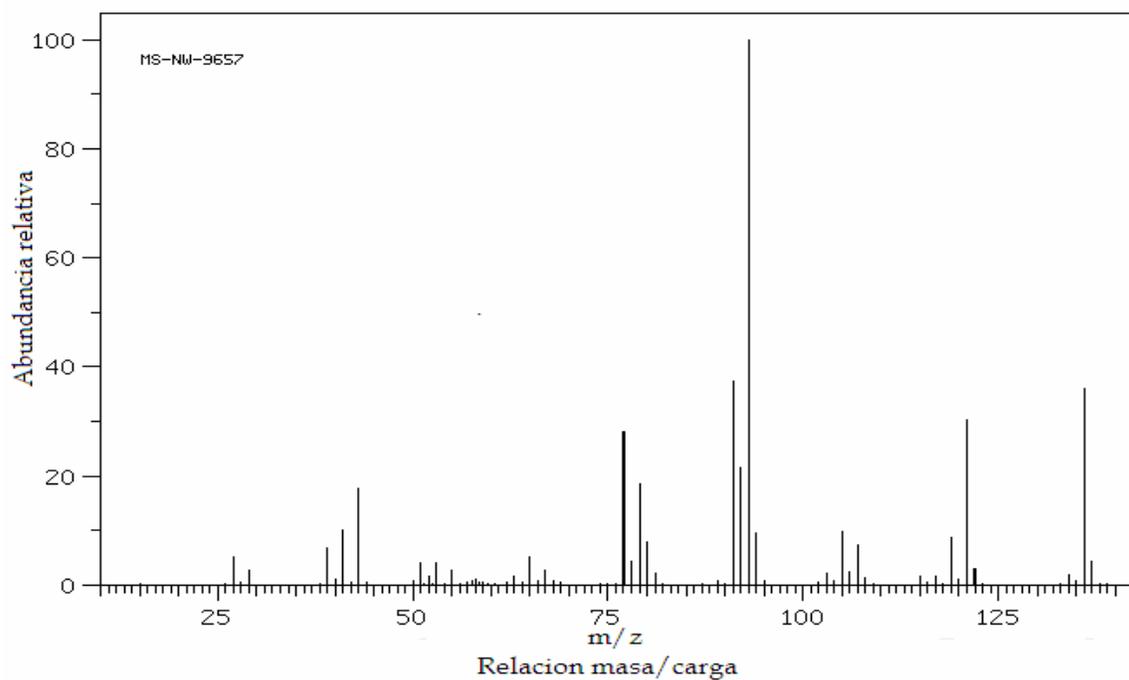
Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 10

Espectro No. 6

Espectro de masas del γ -terpineno.

Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

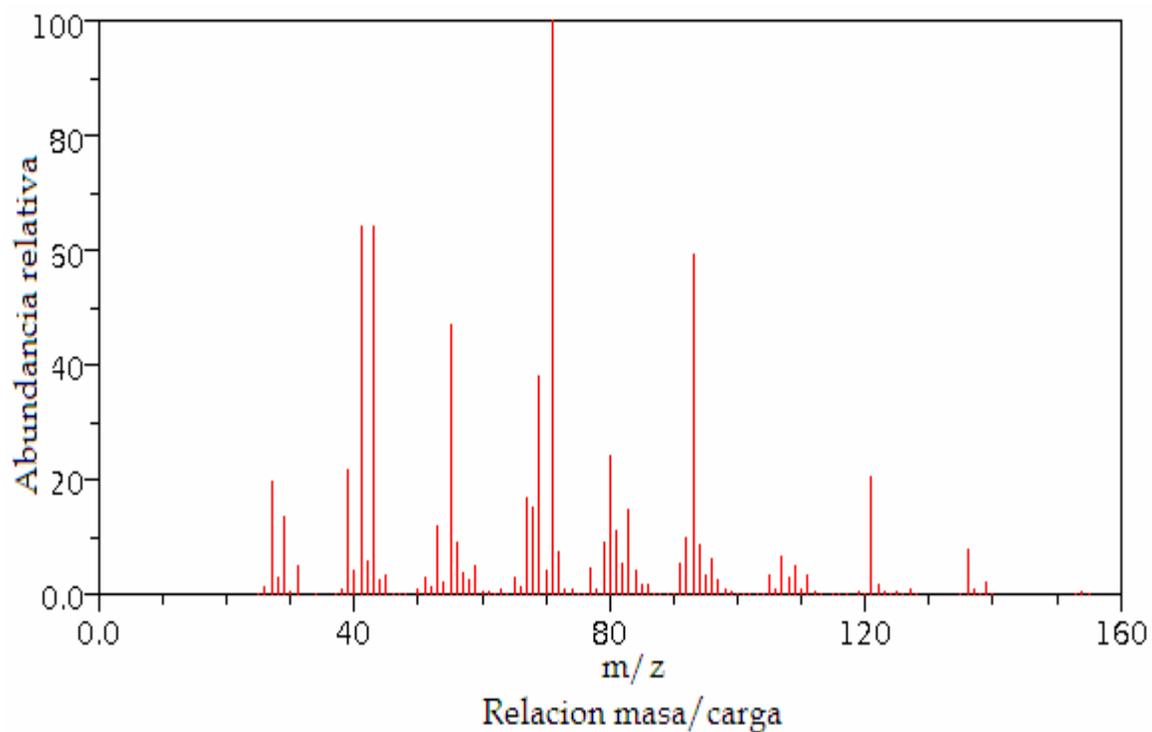
Temperatura de interfase: 150°C.

Temperatura de fuente: 260°C.

ANEXO No. 11

Espectro No. 7

Espectro de masas del linalool.



Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

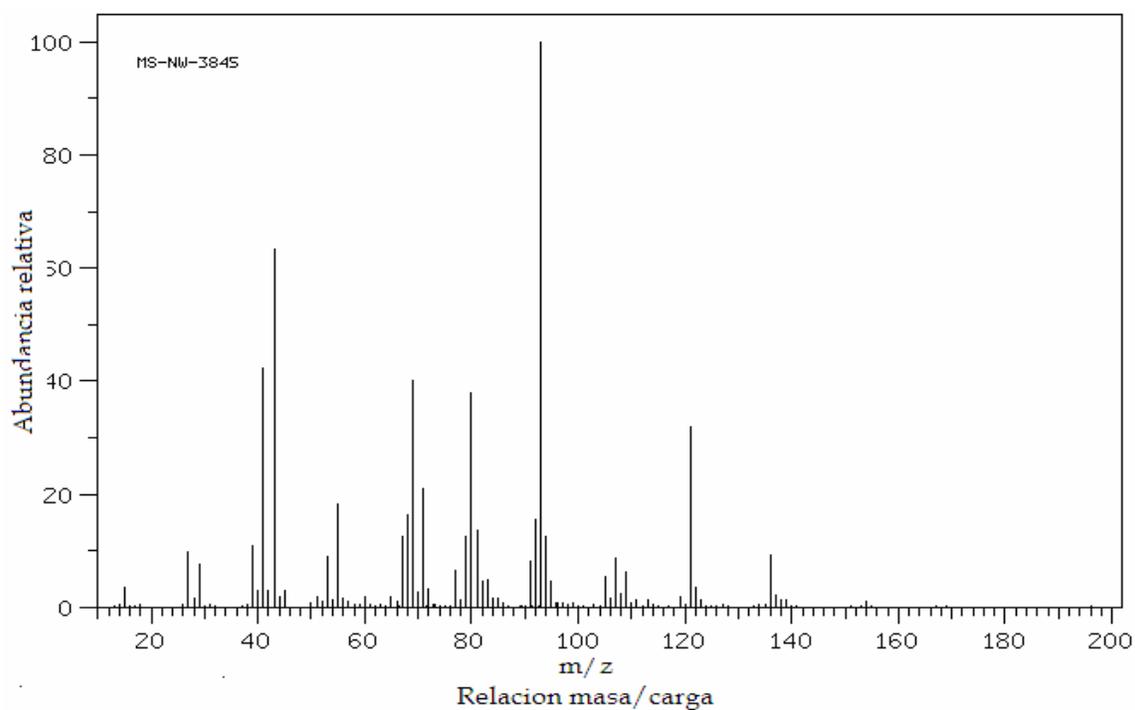
Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 12

Espectro No.8

Espectro de masas del α -terpineol

Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

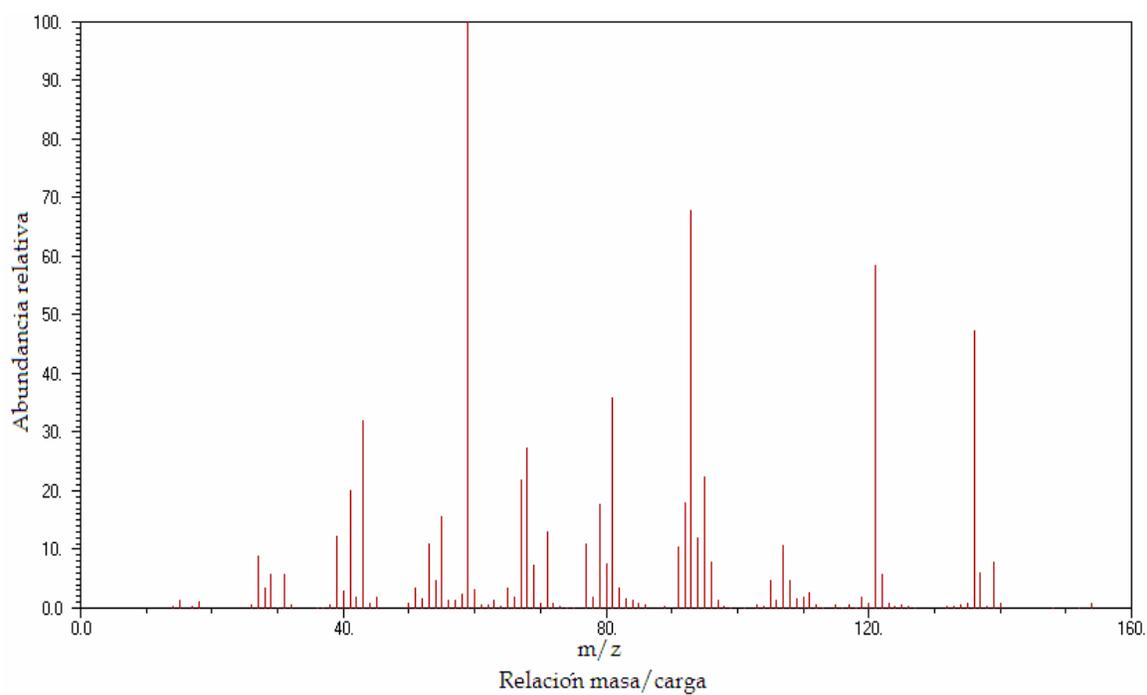
Temperatura de la muestra: 75°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 13

Espectro No. 9

Espectro de masas del acetato de linalilo.



Fuente: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (34)

Fecha de consulta: 8/Mayo/2007. Hora de consulta: 17:25:00.

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 70 eV.

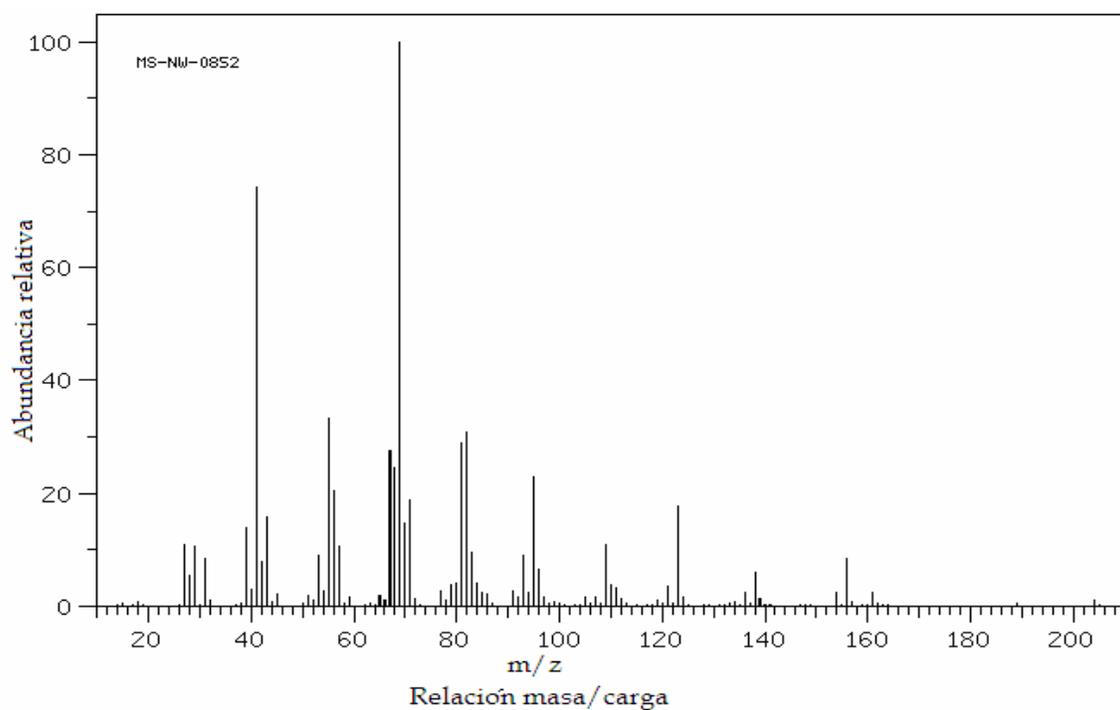
Temperatura de interfase: 280°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 14.

Espectro No. 10.

Espectro de masas del citronelol.



Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

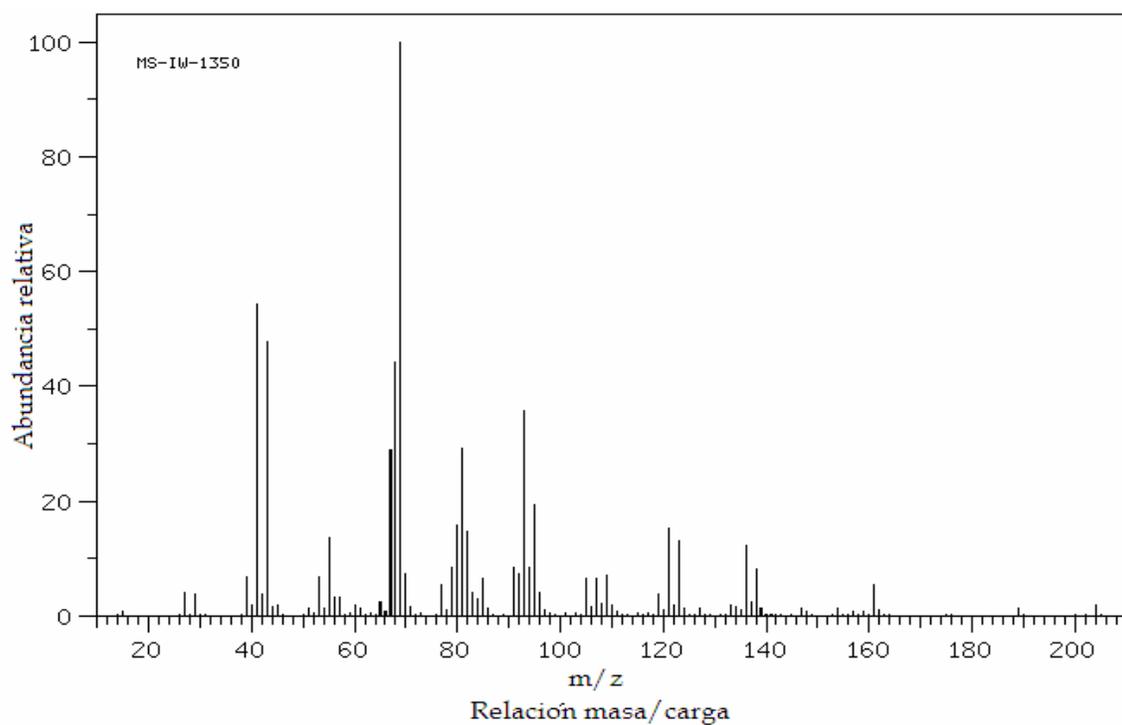
Temperatura de la muestra: 150°C.

Temperatura de fuente: 200°C.

ANEXO No. 15

Espectro No. 11.

Espectro de masas del acetato de geranilo.



Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

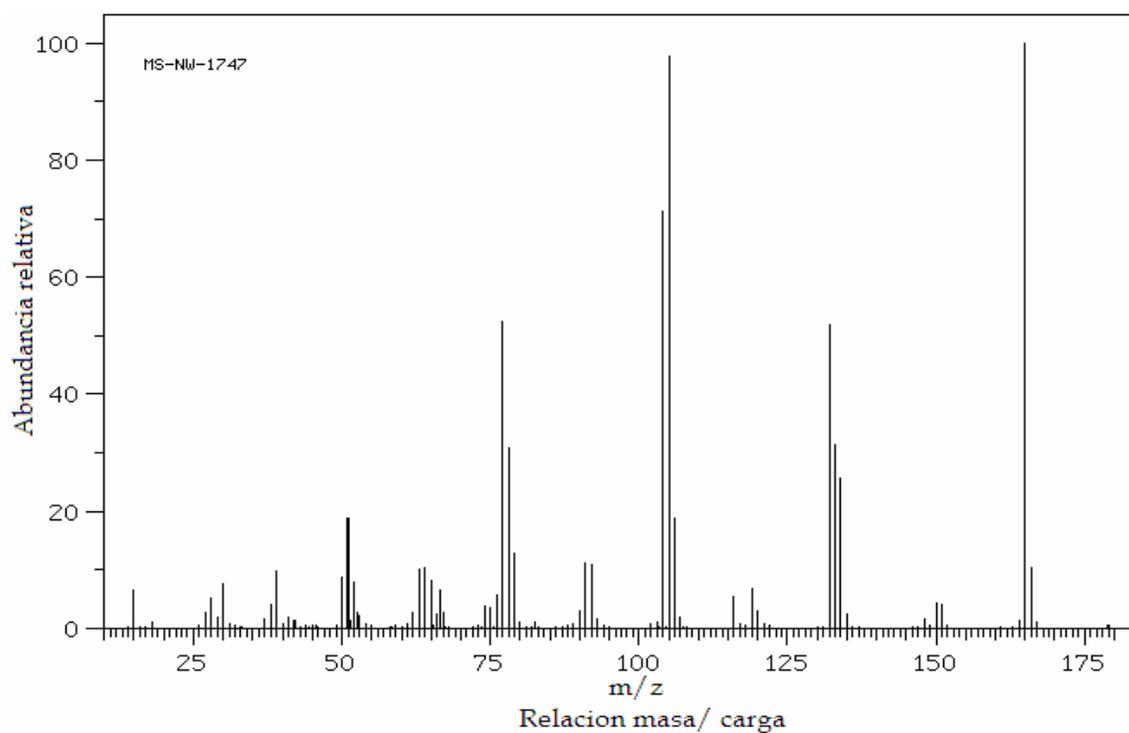
Temperatura de muestra: 160°C.

Temperatura de fuente: 220°C.

ANEXO No. 16

Espectro No. 12.

Espectro de masas del N-metil antranilato de metilo



Fuente: http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi (35)

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 19:50:00

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 75 eV.

Temperatura de la muestra 180°C.

Temperatura de fuente: 240°C.

ANEXO No. 17

Tabla No. 15

TIEMPOS DE RETENCIÓN Y ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE MANDARINA.

Componente	Rt	Punto ebullición (°C)			Solubilidad	
		700 mm Hg	400 mm Hg	40 mm Hg	H ₂ O	Hexano
α -pineno	13.52	156.2	132.3	66.8	-	+
β -pineno	15.79	164.6	136.1	71.5	-	≈
mirreno	16.48	171.5	148.3	82.6	-	≈
(+)-limoneno	18.74	178	151.4	84.3	-	+
p-cimeno	19.62	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
γ -terpineno	20.27	183	N.D.	N.D.	-	≈
linalol	22.50	198	175.6	109.9	-	≈
α -terpineol	27.49	220.8	194.3	126		≈
citronelol	29.36	244.4	201	137.2	-	+
acetato de linalilo	30.82	220	196.2	127.7	-	≈
acetato de geranilo	37.13	243.3	219.8	150	-	≈
N-metilantranilato de metilo	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

+ = soluble; - = insoluble, ≈ = Parcialmente soluble. N.D. = no disponible.

Fuente: http://www.tesisnarva.net/TESIS_UM/AVAILABLE/TDR-0226107-100108/ (36)

Fecha de consulta: 15/Mayo/2007. Hora: 20:25:00

ANEXO No. 18

Identificación de las variedades de mandarina *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina Común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy)



Figura No. 7. *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra)

Fuente: Proyecto de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria -PROFRUTA-.



Figura No. 8. *Citrus reticulata* (Mandarina Común)

Fuente: Proyecto de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria -PROFRUTA-.
ANEXO No.19

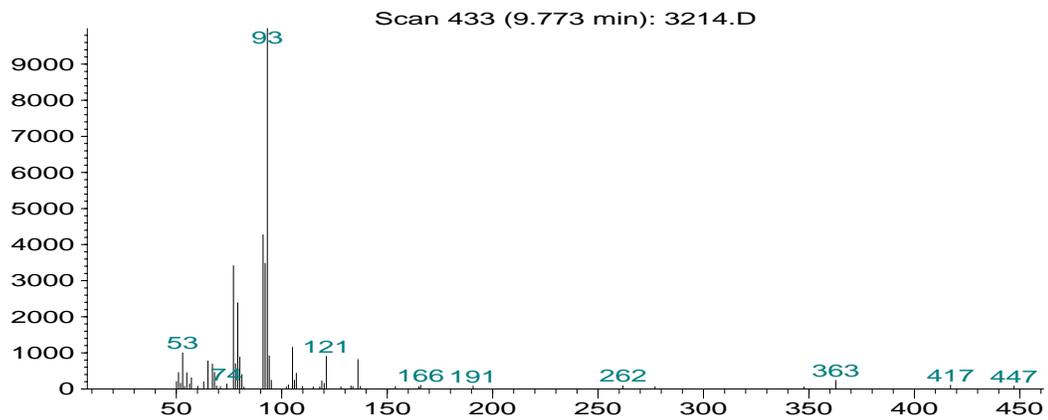


Figura No. 9. Citrus reticulata Blanco o Citrus tangerina (Mandarina Dancy)
Fuente: Proyecto de Desarrollo de la Fruticultura y Agroindustria -PROFRUTA-.

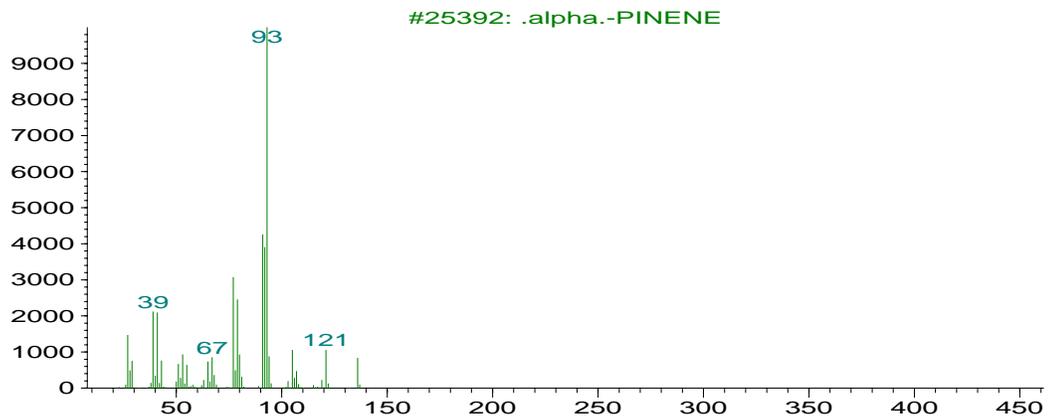
ANEXO No. 20

Espectro de masas del α -pineno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

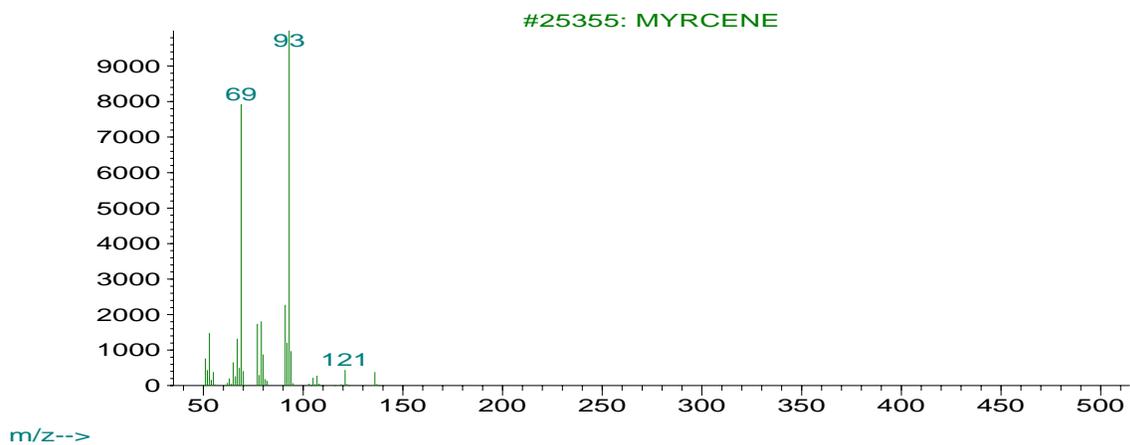
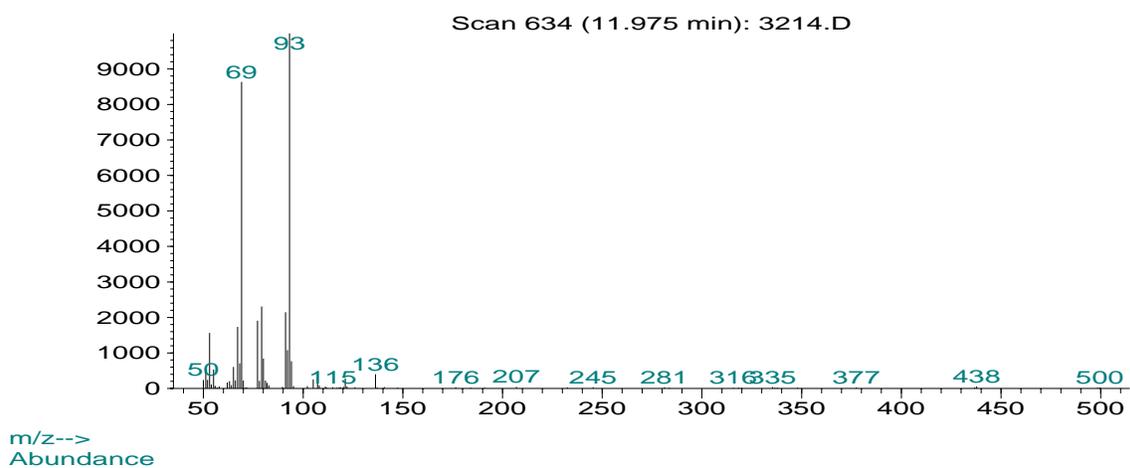
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 21

Espectro de masas del β -mirceno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

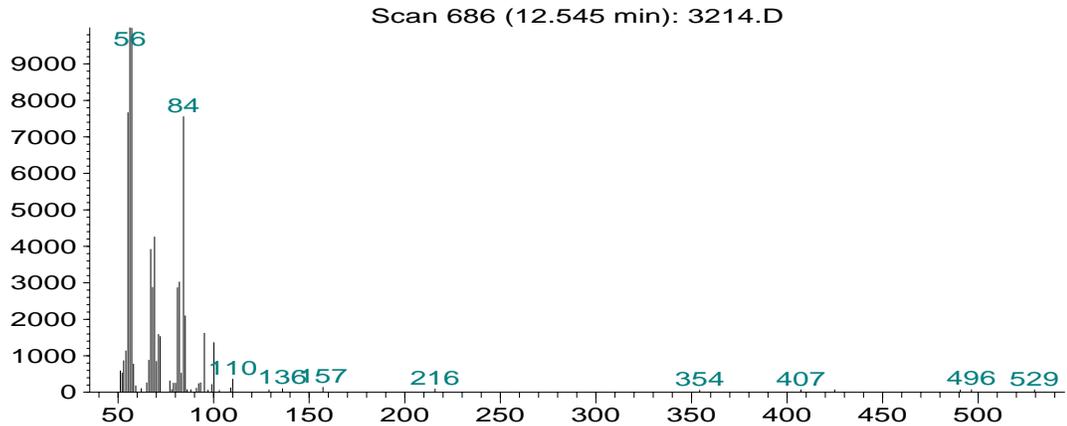
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

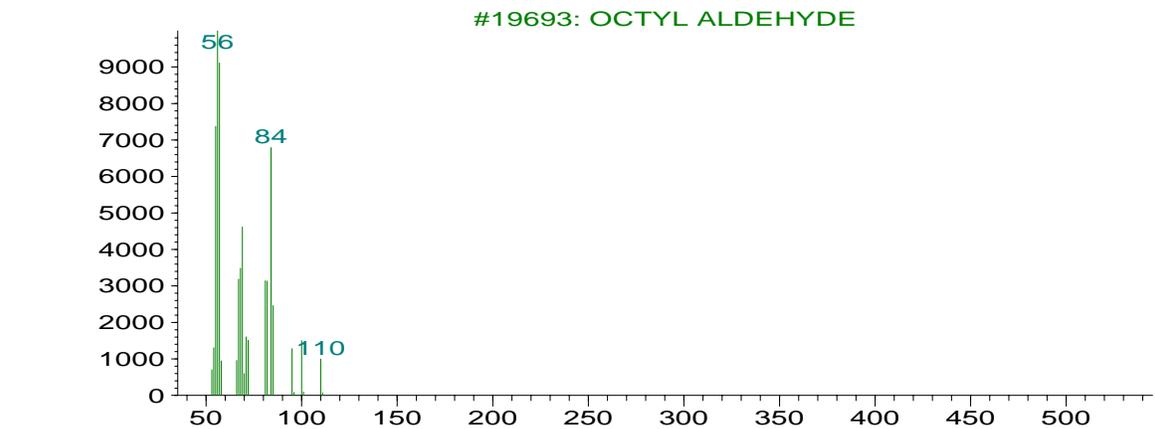
ANEXO No. 22

Espectro de masas del n-octanal identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

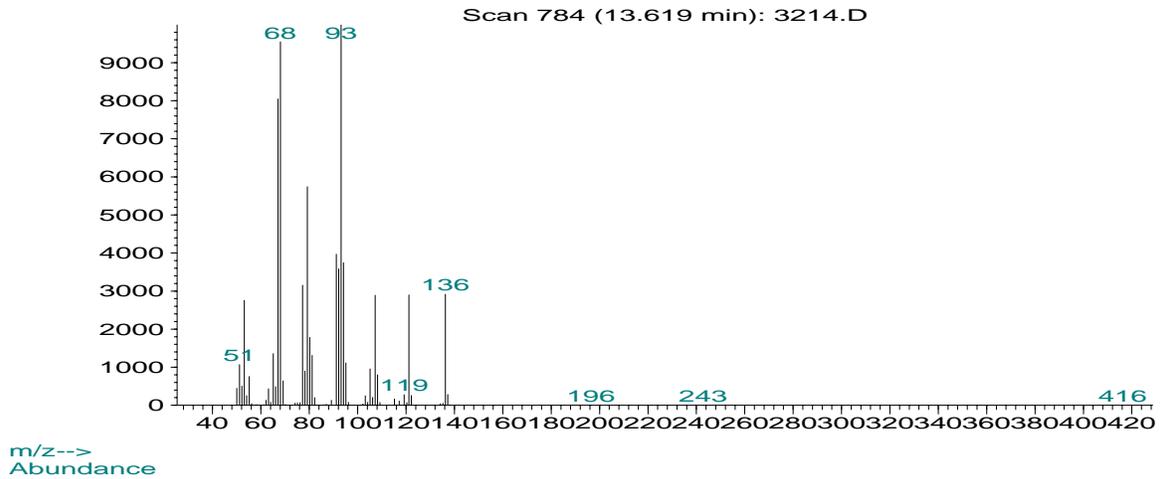
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

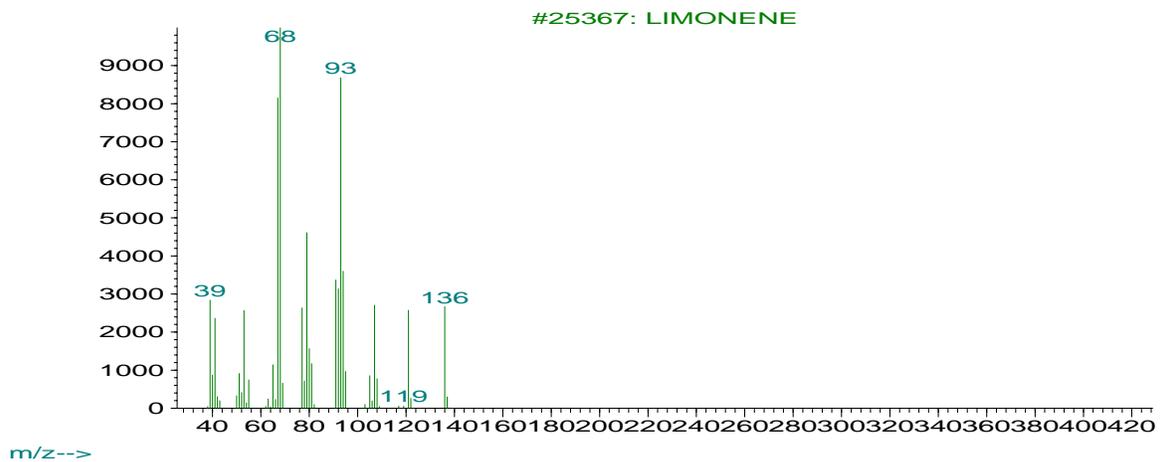
ANEXO No. 23

Espectro de masas del limoneno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

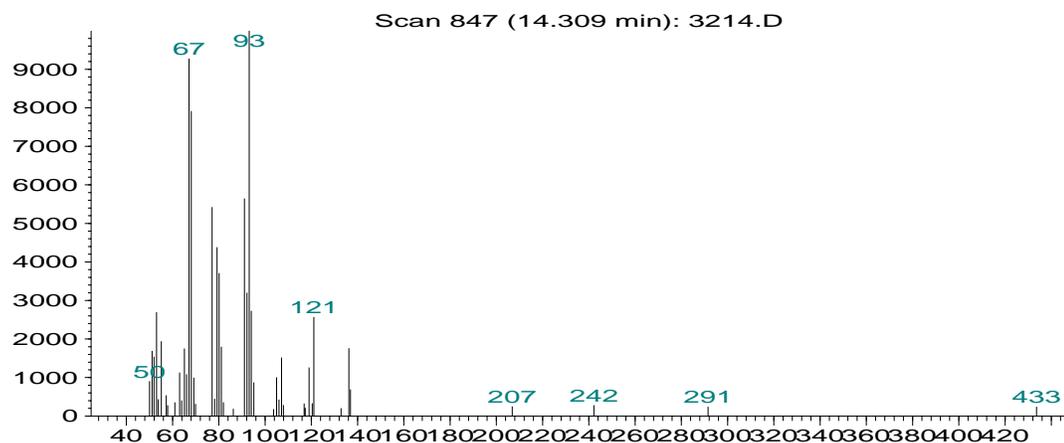
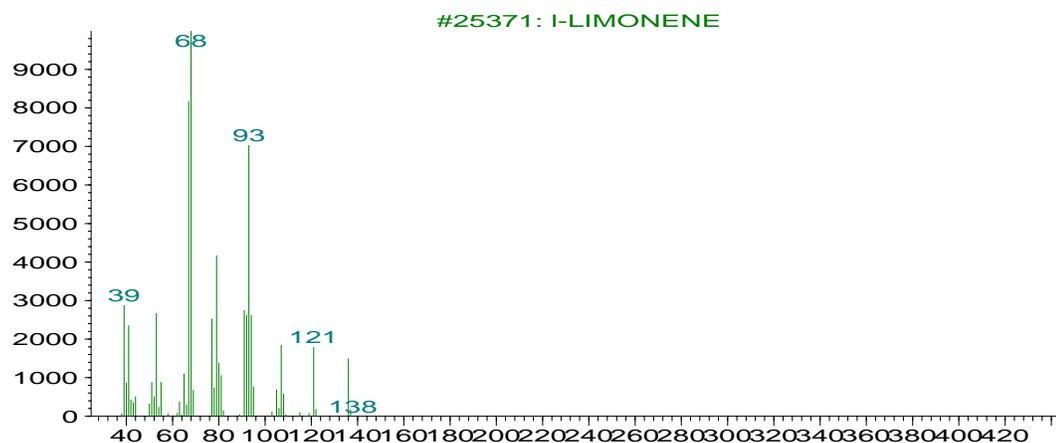
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 24

Espectro de masas del l-limoneno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance

m/z-->
Abundance

m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

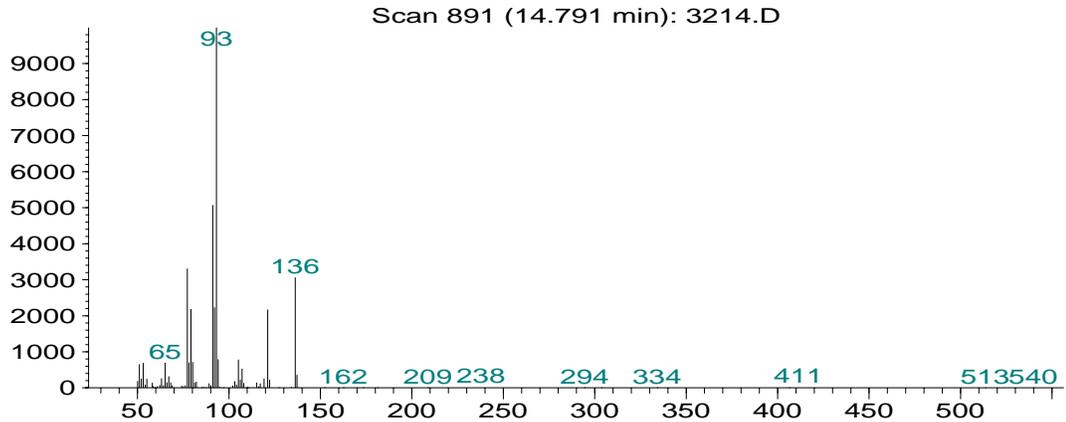
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

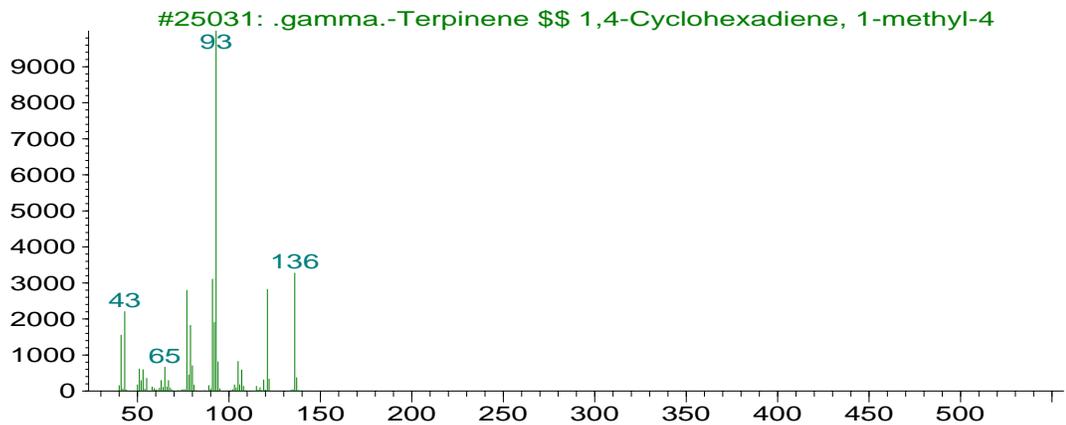
ANEXO No. 25

Espectro de masas del γ -terpineno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

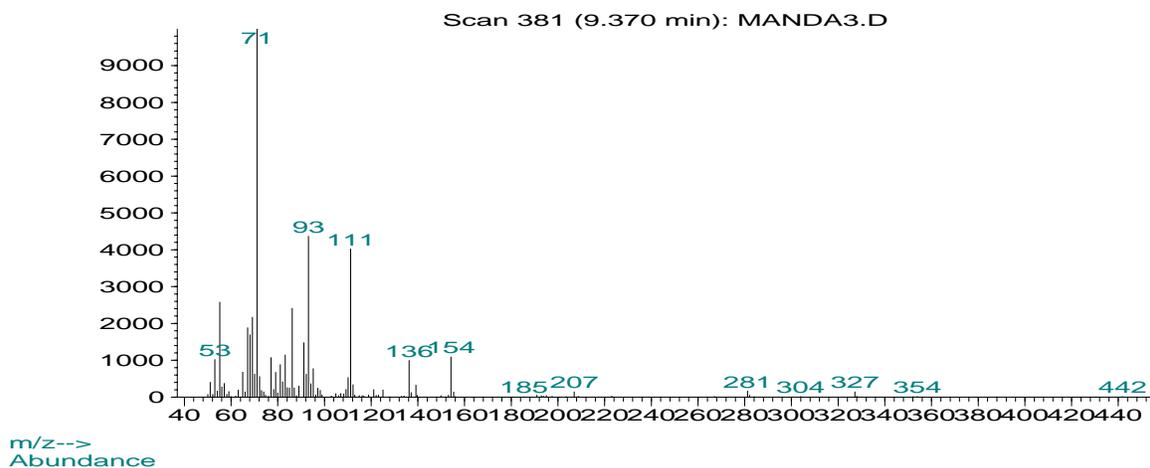
Temperatura de la muestra: 250 °C.

Temperatura de fuente: 280 °C.

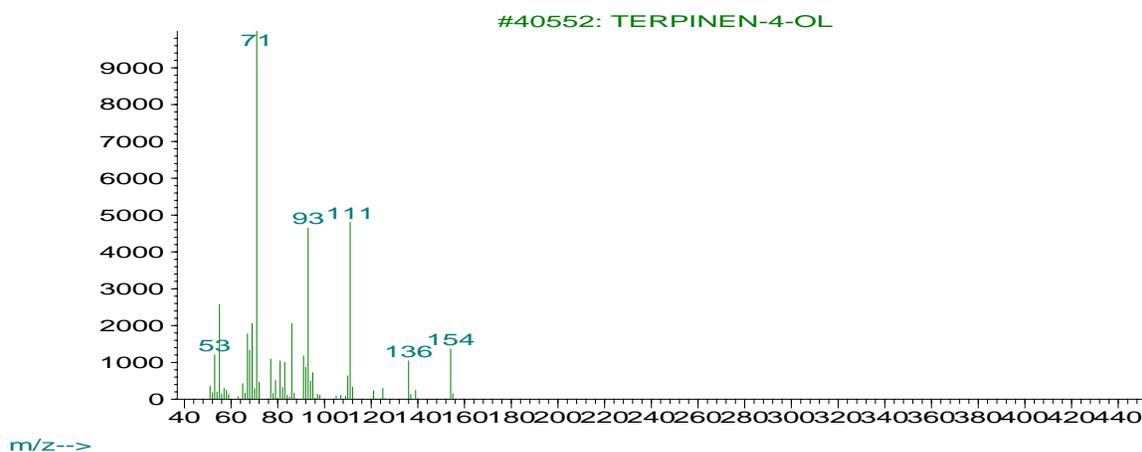
ANEXO No. 26

Espectro de masas del 4-terpineol identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

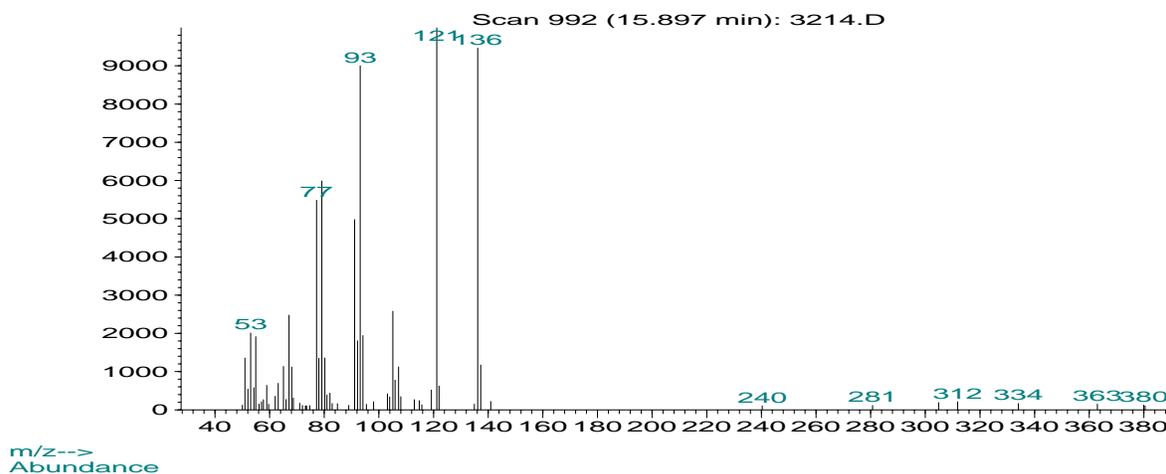
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

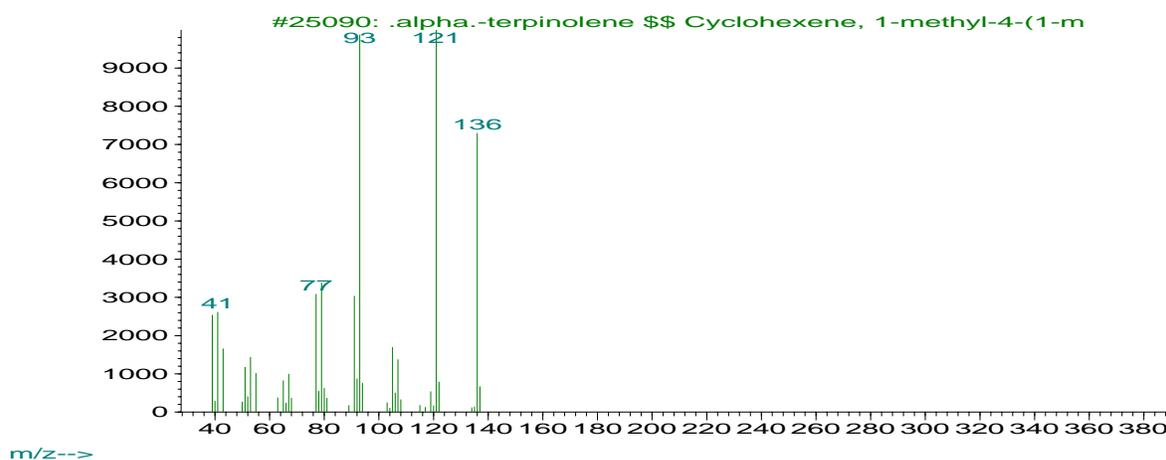
ANEXO No. 27

Espectro de masas del α -terpinoleno identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

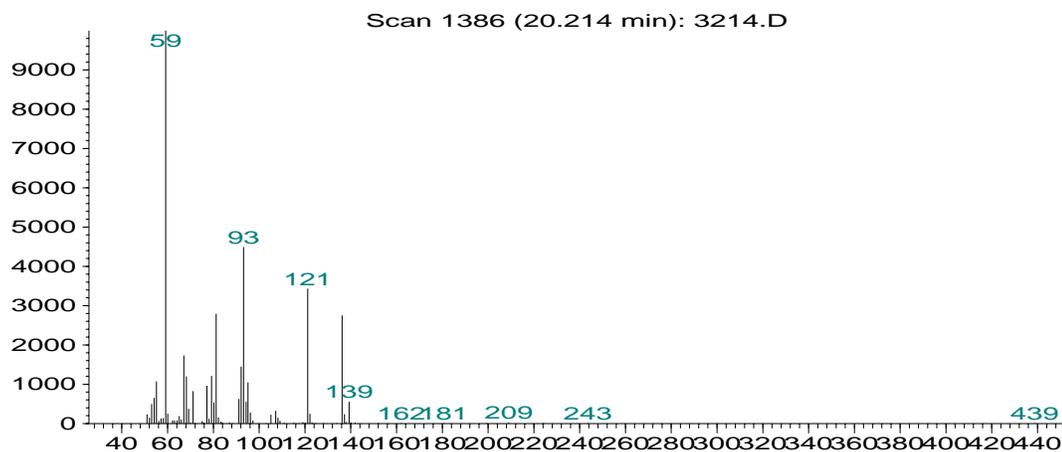
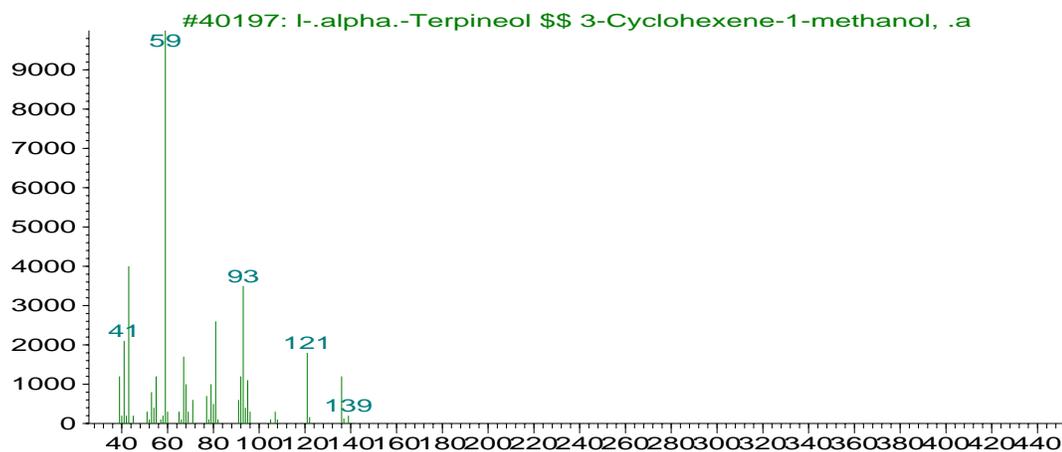
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 28

Espectro de masas del α -terpineol identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance

m/z-->
Abundance

m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

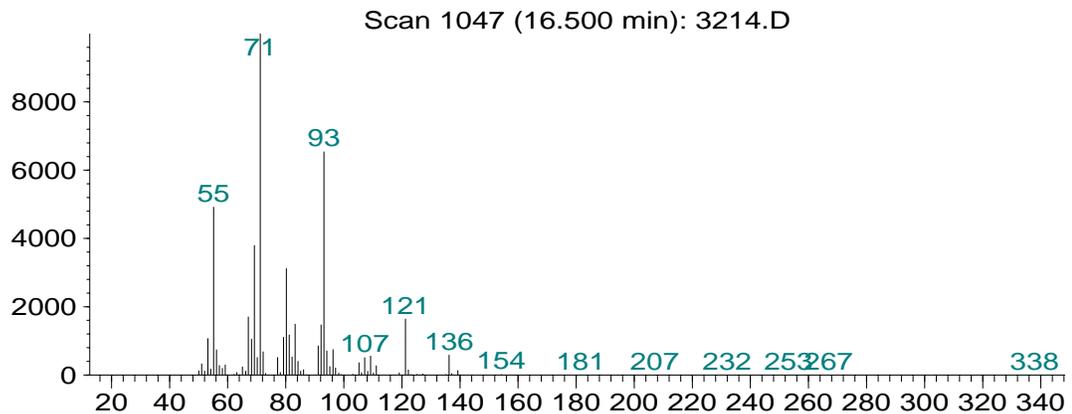
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 29

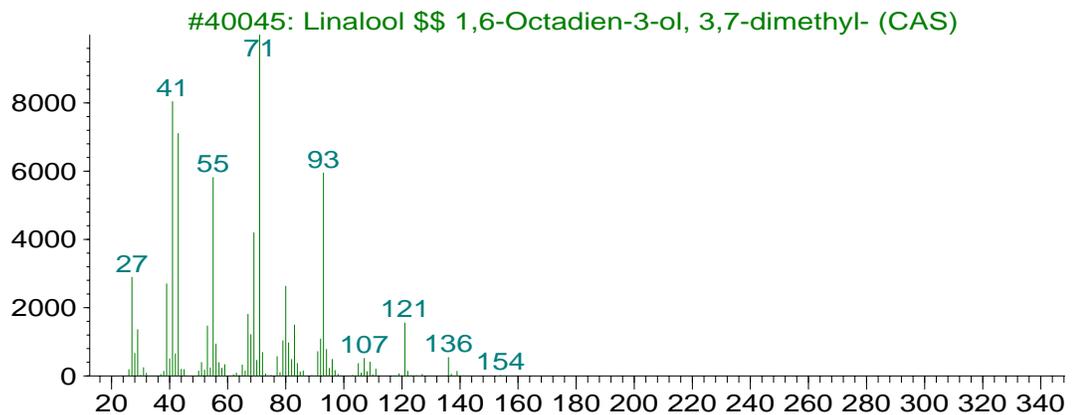
Espectro de masas del linalool identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->

Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

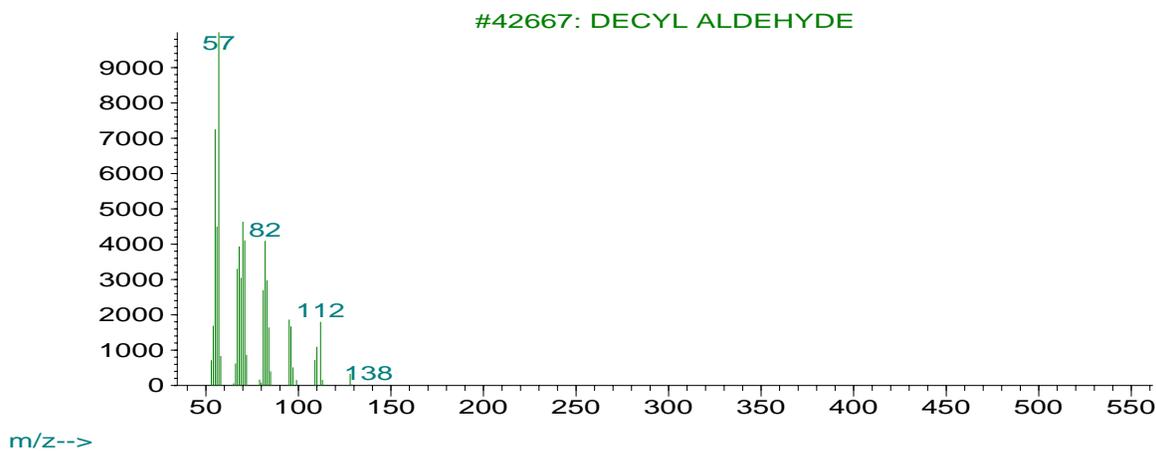
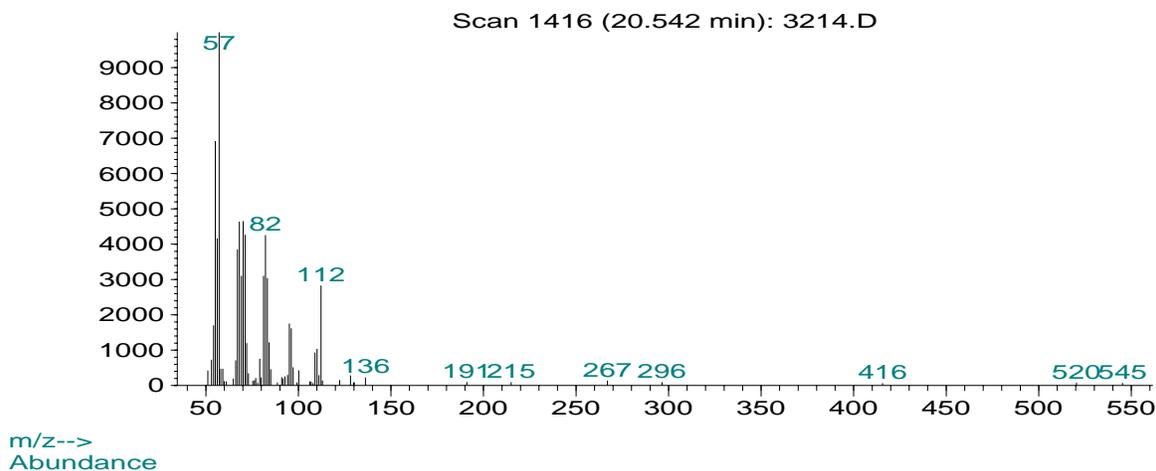
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 30

Espectro de masas del n-decanal identificado y cuantificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

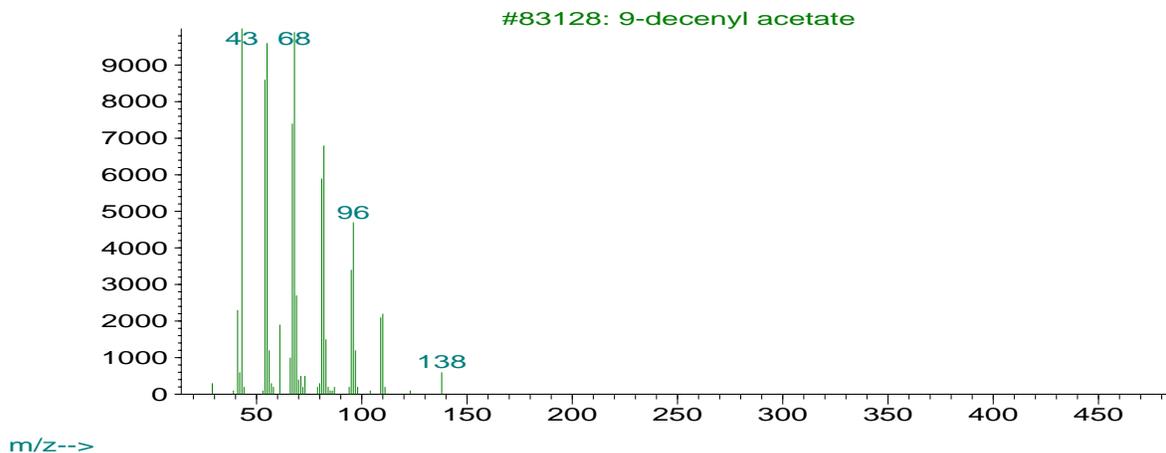
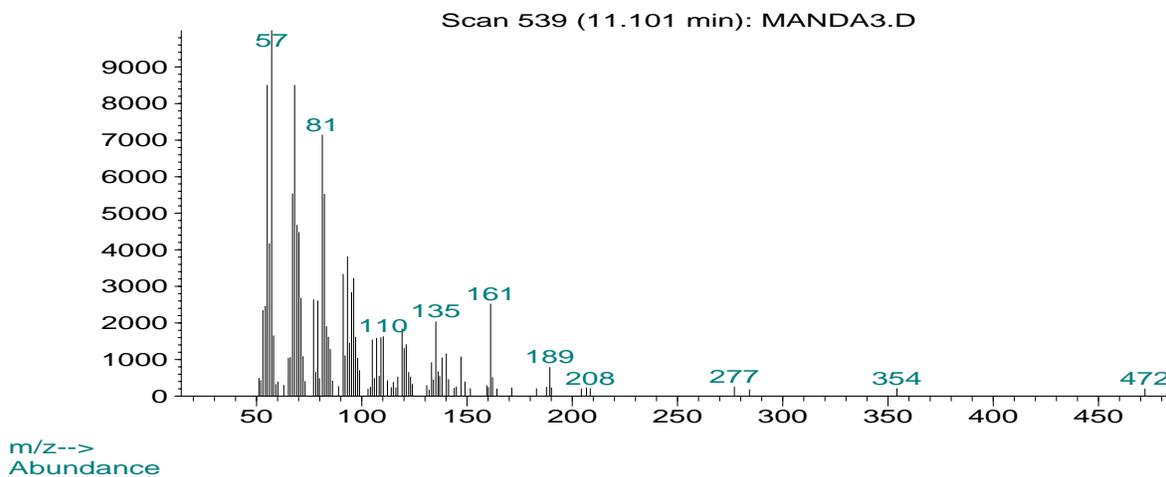
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 31

Espectro de masas del acetato 9-decenilico identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

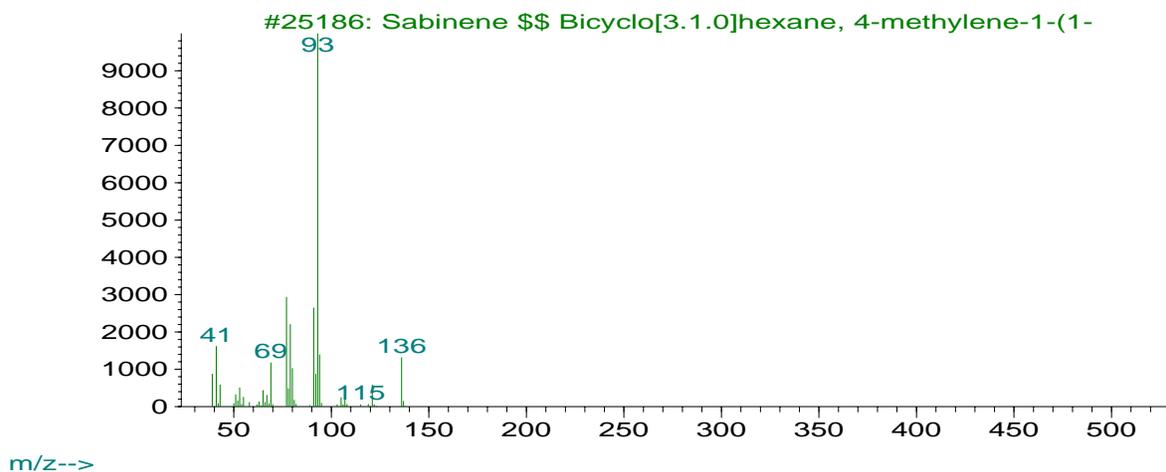
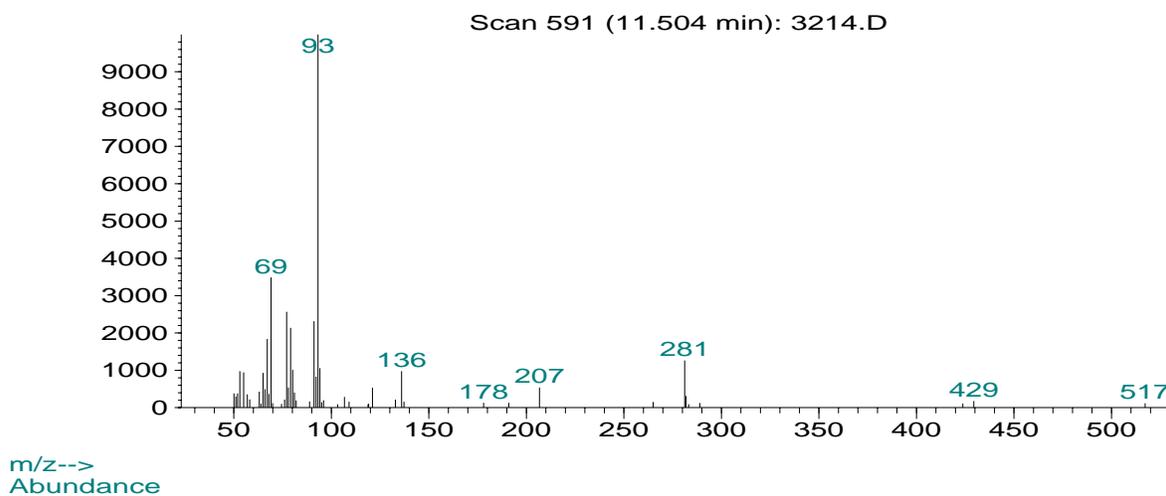
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 32

Espectro de masas del sabineno identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

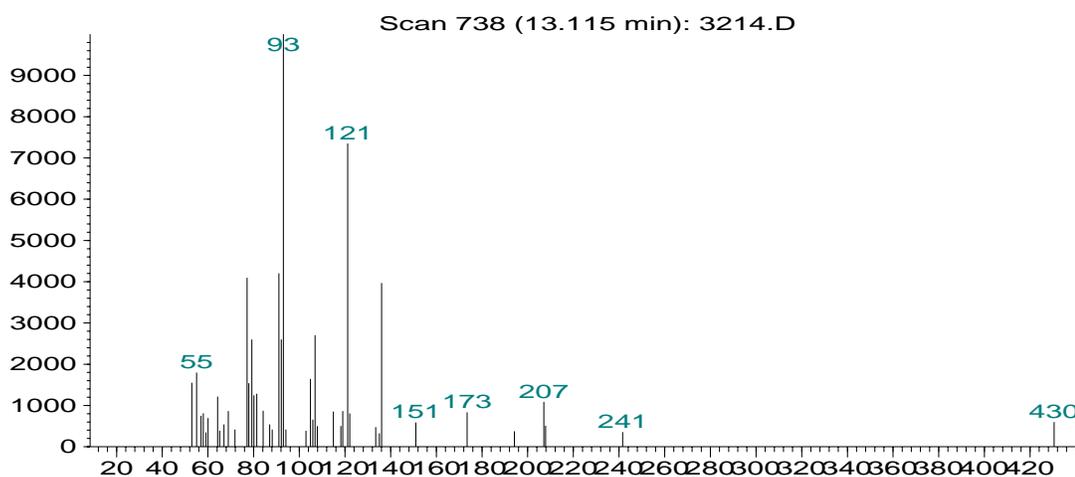
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

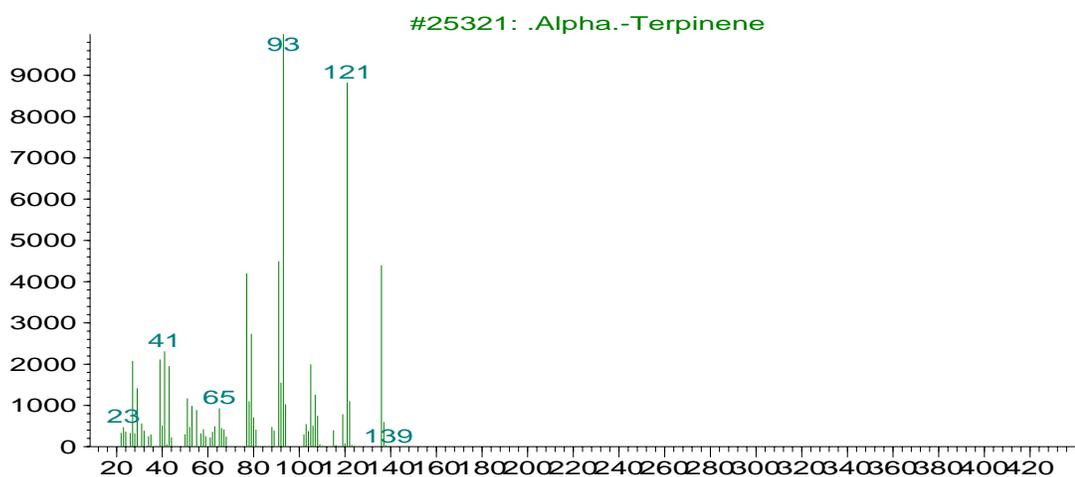
ANEXO No. 33

Espectro de masas del α -terpineno identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

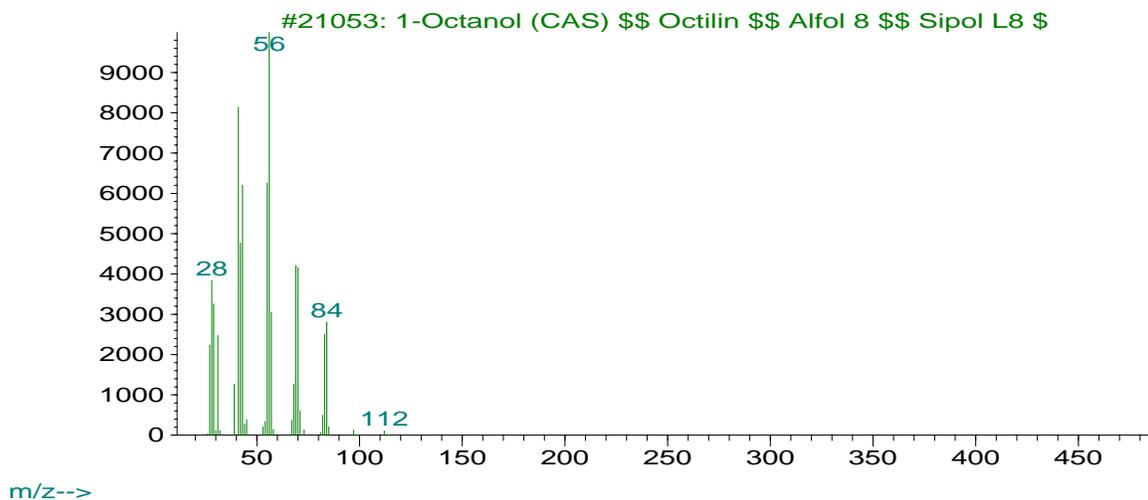
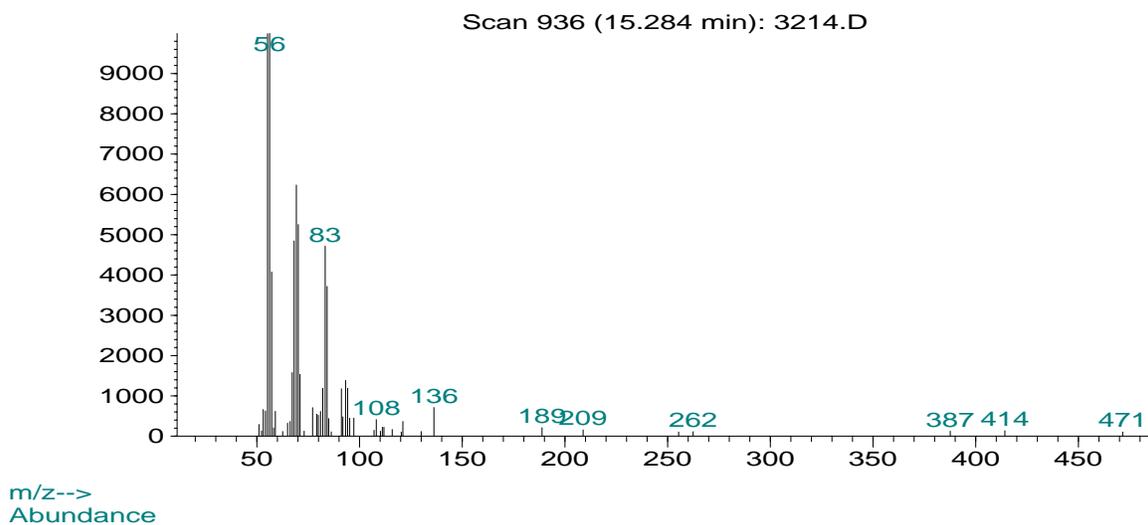
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 34

Espectro de masas del 1-octanol identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

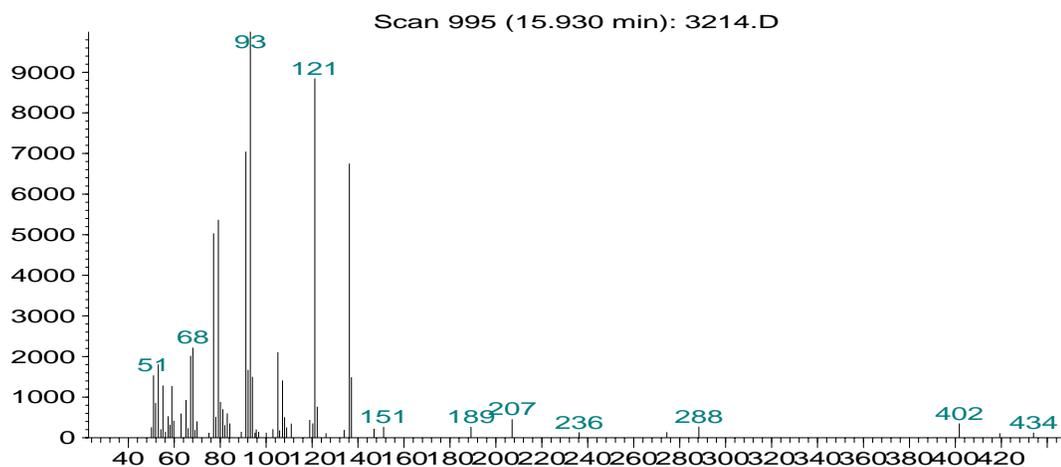
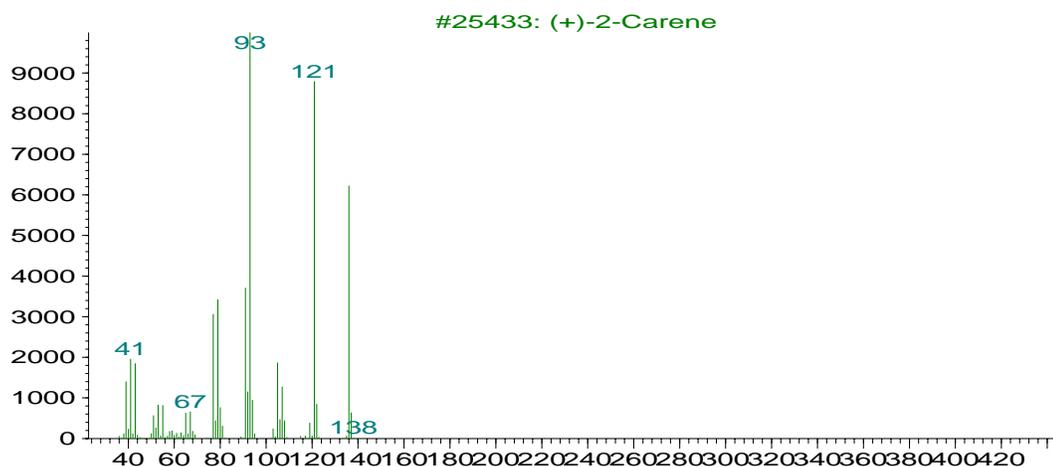
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 35

Espectro de masas del (+)-2-careno identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance

m/z-->
Abundance

m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

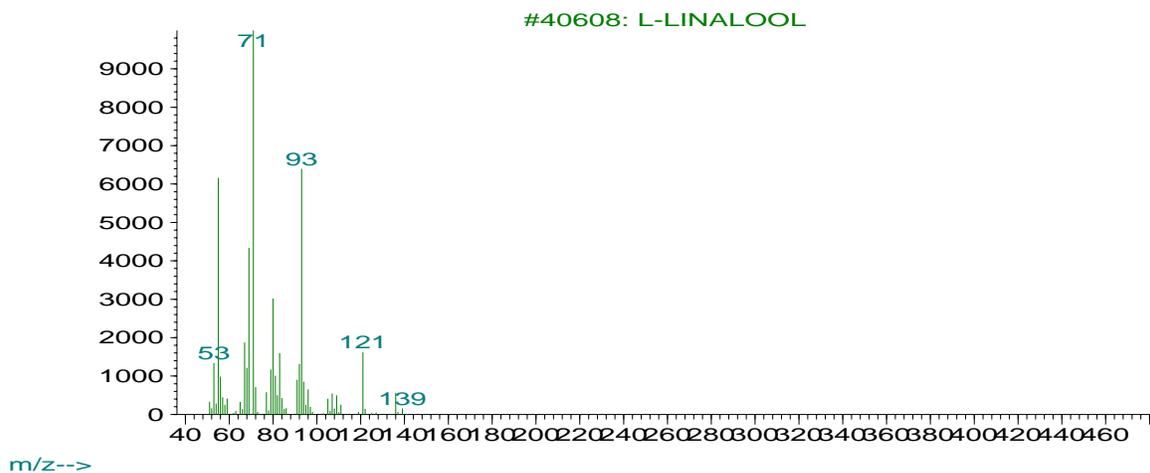
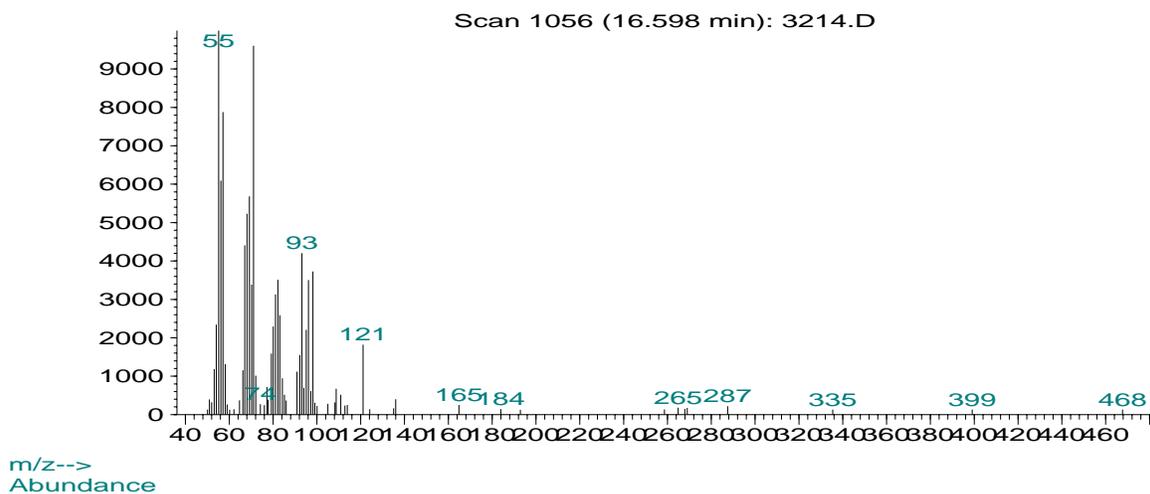
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 36

Espectro de masas del l-linalool identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

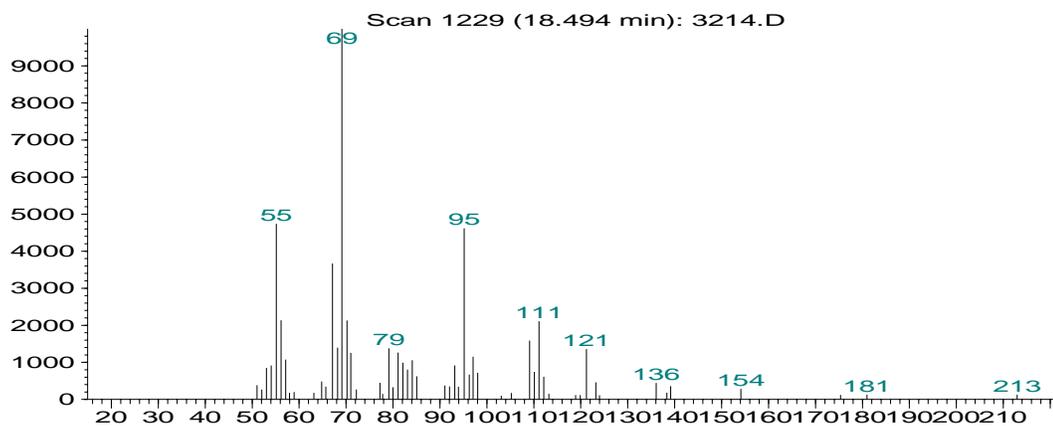
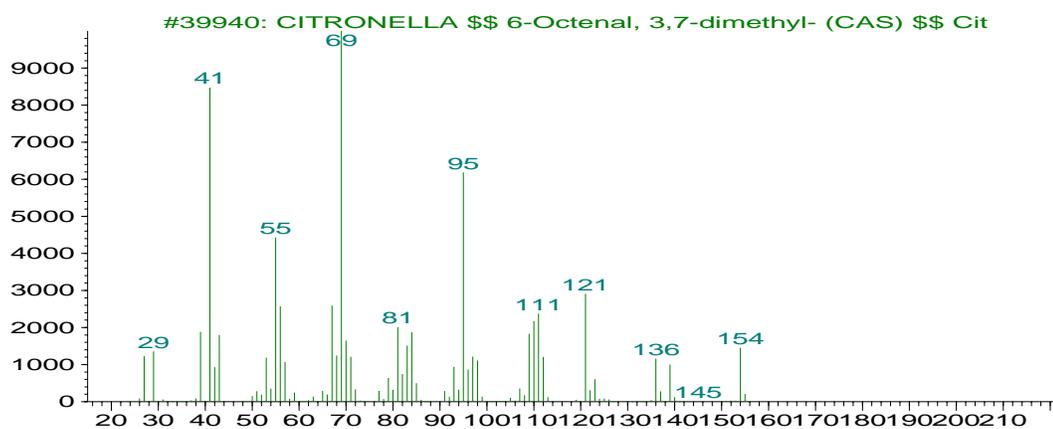
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 37

Espectro de masas del 6-octenal identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance

m/z-->
Abundance

m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

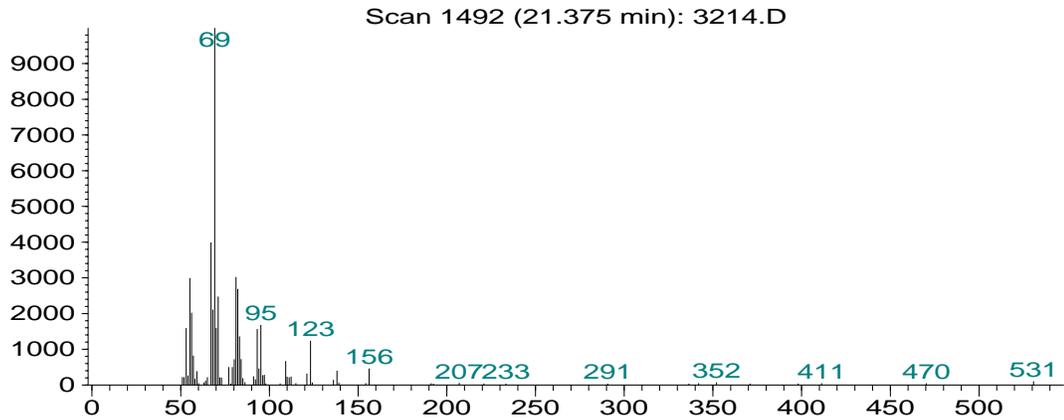
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

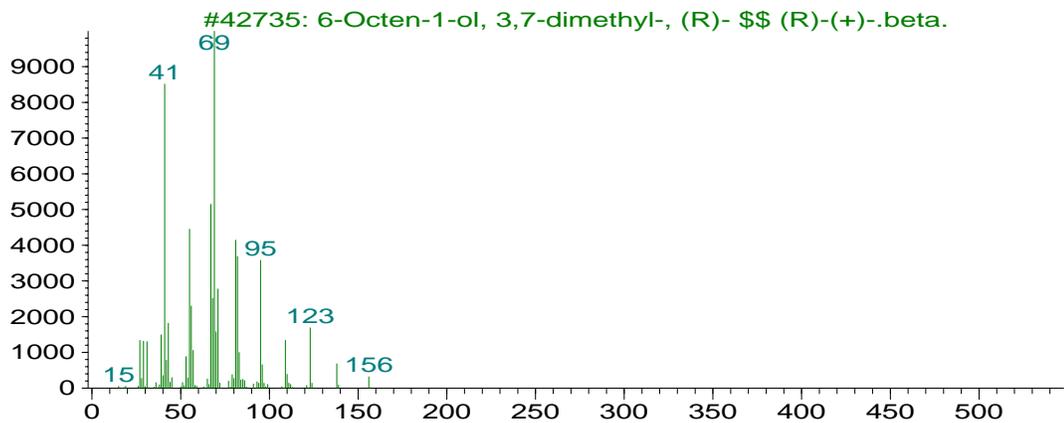
ANEXO No. 38

Espectro de masas del 6-octen-1-ol identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

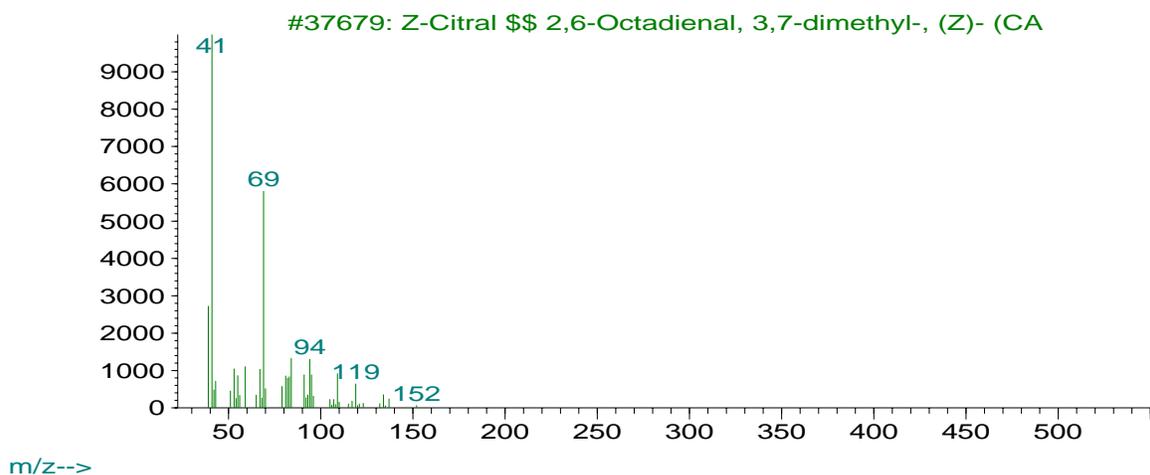
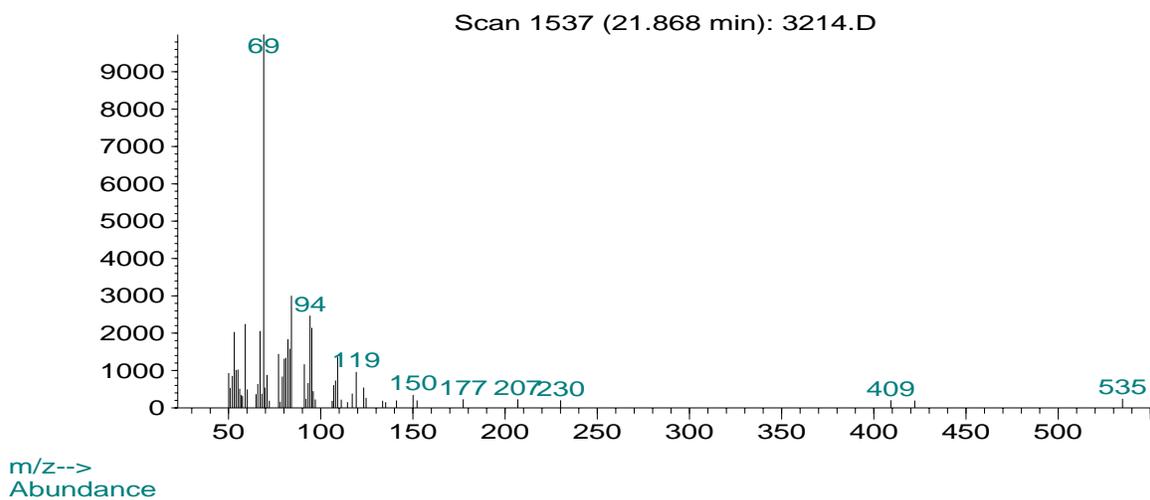
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 39

Espectro de masas del 2,6-octadienal identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

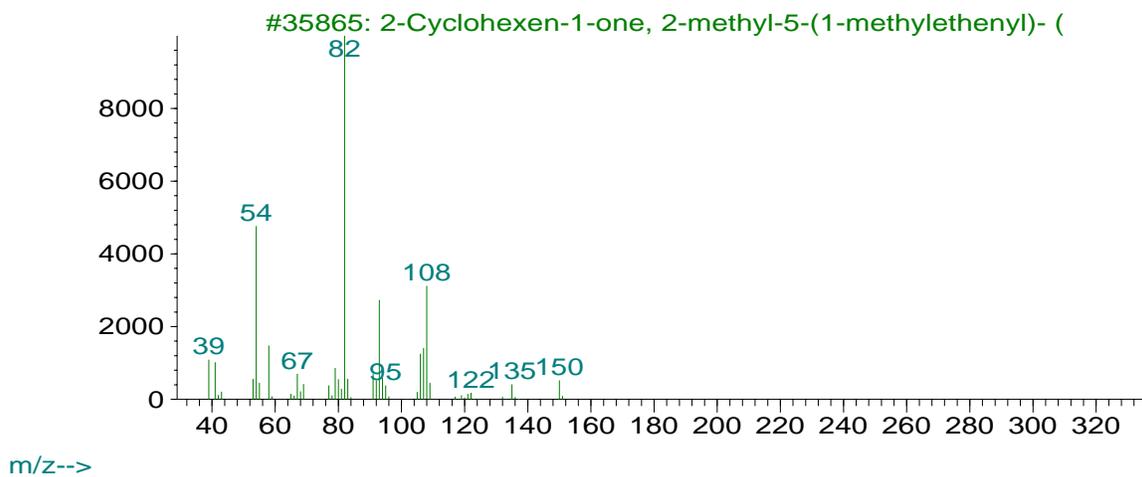
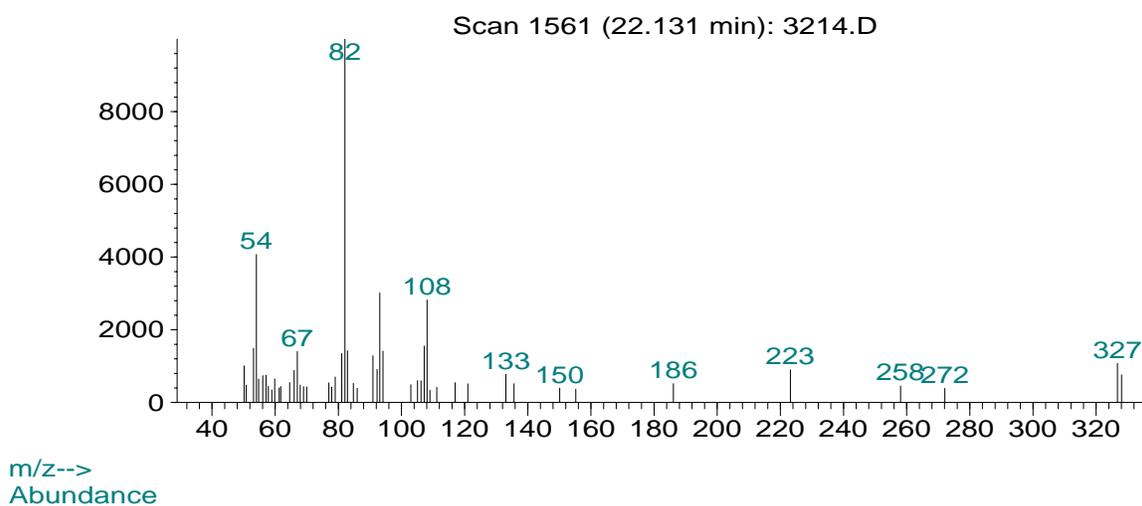
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 40

Espectro de masas del 2-ciclohexen-1-ona identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

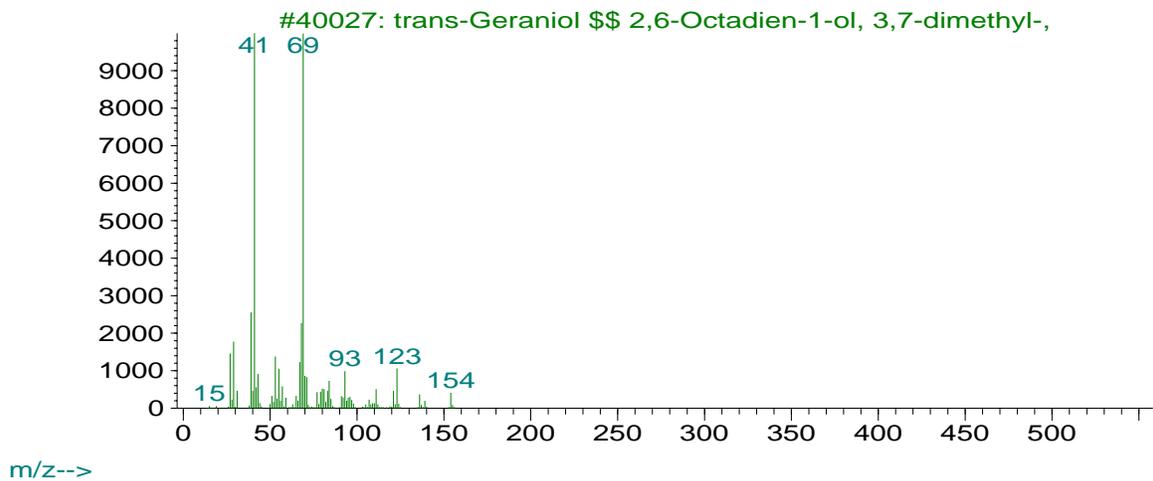
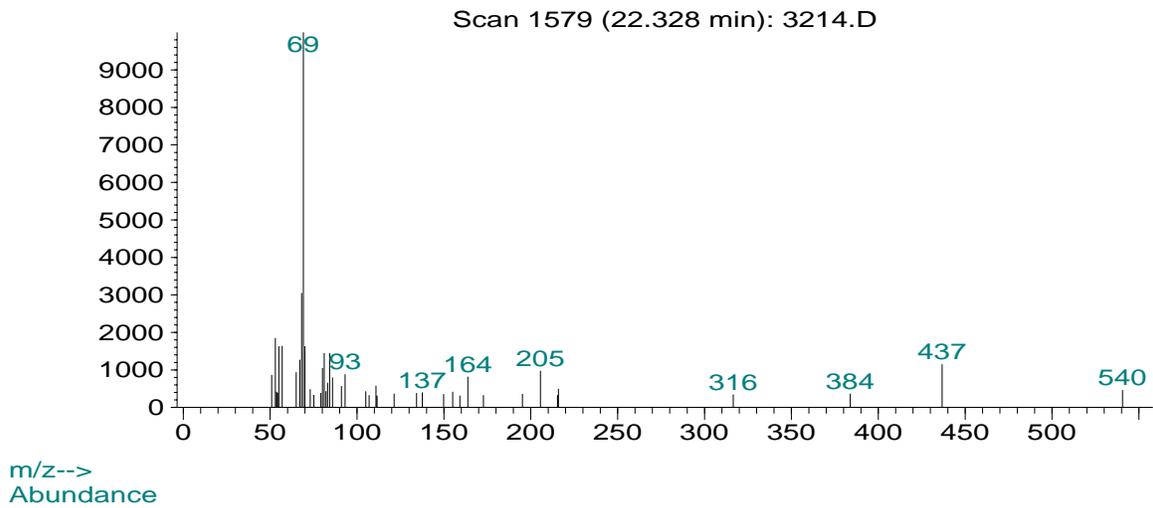
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 41

Espectro de masas del 2,6-octadien-1-ol identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

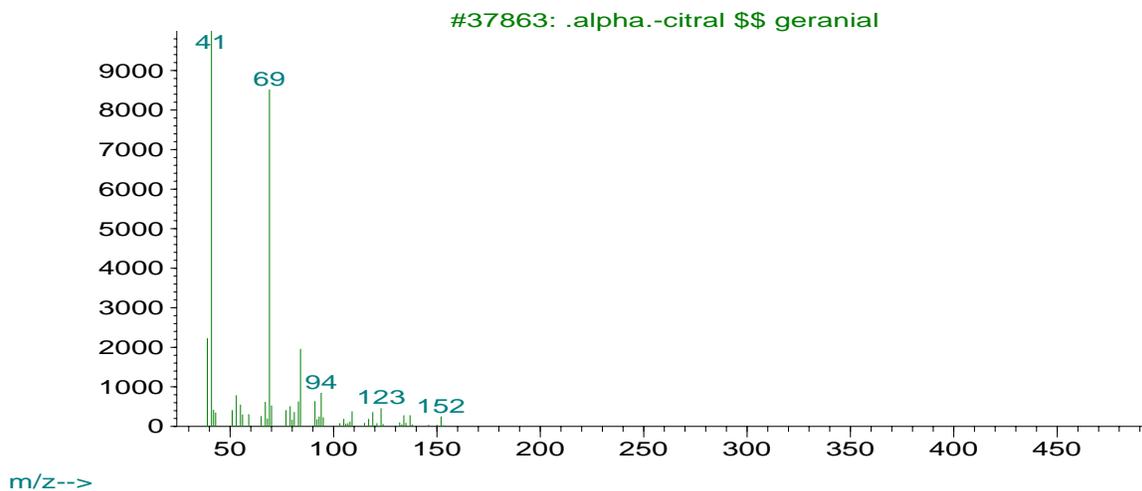
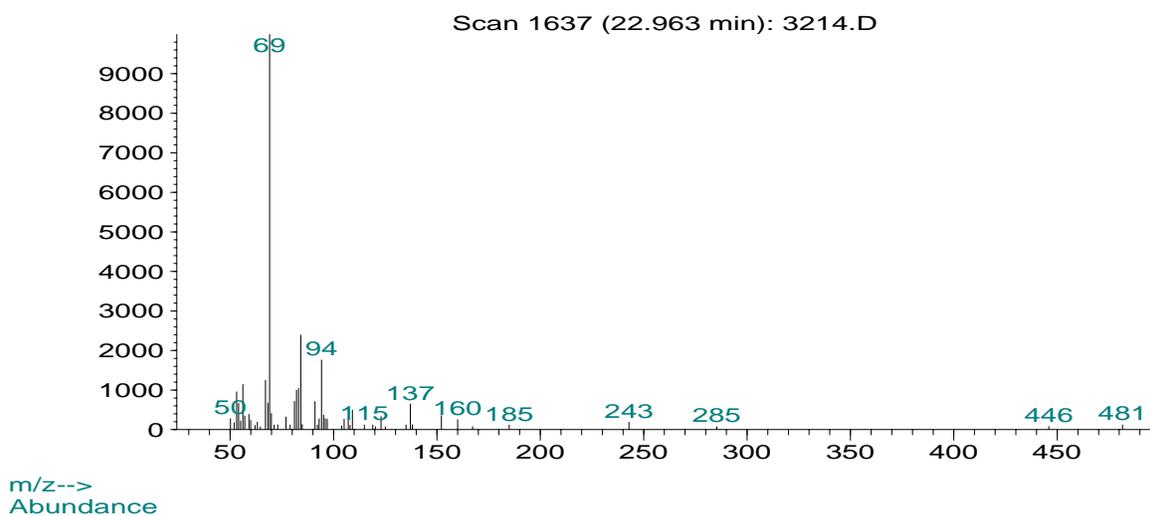
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 42

Espectro de masas del α -citral identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

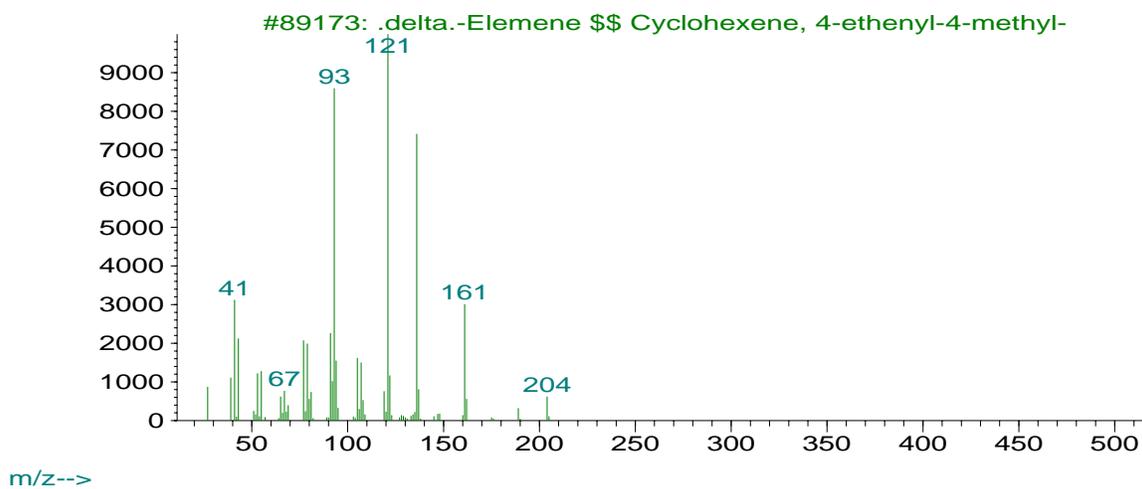
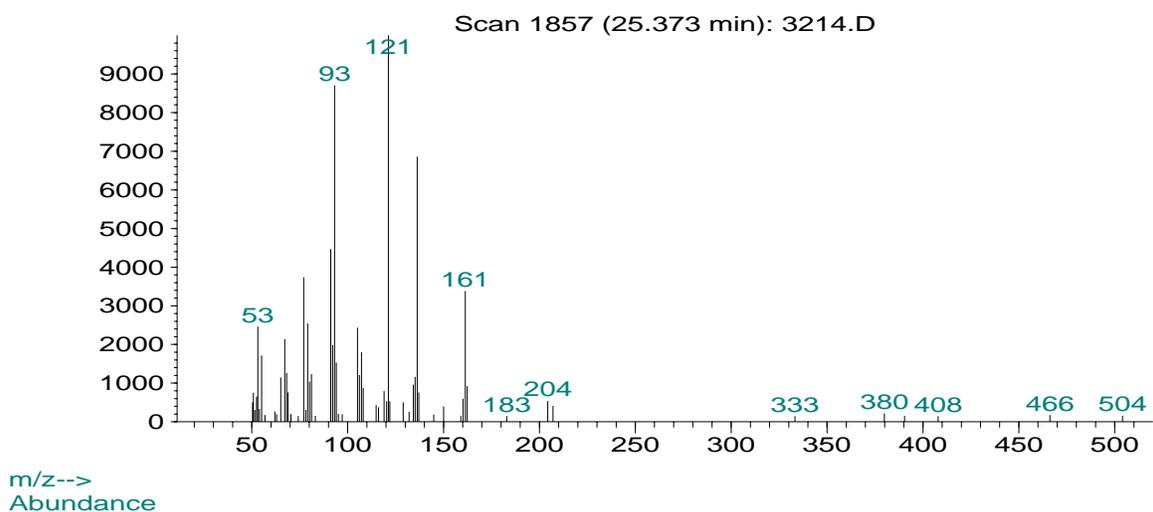
Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 43

Espectro de masas del δ -elemeno identificado en el aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Abundance



Fuente: Base de datos Wiley275.

Fecha de consulta: 8/mayo/2007. Hora: 11:07:47

Ionización: Ionización electrónica. Energía de ionización 19.41 eV.

Temperatura de la muestra: 250°C.

Temperatura de fuente: 280°C.

ANEXO No. 44

Tabla No. 16. Rendimiento de extracción del aceite esencial del flavedo de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy).

Muestra	Peso muestra flavedo fresco (g)	Peso de aceite esencial (g)	Rendimiento de extracción (%)
<i>Citrus Reshni</i> (Mandarina Cleopatra)	125.0	1.0143	0.8114
<i>Citrus Reshni</i> (Mandarina Cleopatra)	130.0	1.0658	0.8198
<i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común)	135.0	0.9484	0.7025
<i>Citrus reticulata</i> (Mandarina Común)	131.5	0.9376	0.7130
<i>Citrus reticulata</i> Blanco o <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy)	123.0	0.9484	0.6415
<i>Citrus reticulata</i> Blanco o <i>Citrus tangerina</i> (Mandarina Dancy)	123.0	0.8398	0.6718

Fuente: Resultados experimentales obtenidos del arrastre con vapor de agua (hidrodestilación Neoclevenger) del flavedo fresco de las variedades de mandarina bajo estudio. -LIPRONAT-