

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA**



**CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES VOLÁTILES  
DEL ACEITE ESENCIAL DE LA LIMA  
*(citrus aurantifolia (Christm.) Swingle)***

---

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE LICENCIADO EN QUÍMICA**

---

**ADÁN DÍAZ RUIZ**

**LIMA – PERÚ**

**2008**

**DEDICATORIA:**

*A mi señora madre María Adría  
y a mi hija Leslie Maricielo*

## **AGRADECIMIENTOS:**

Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que contribuyeron a que este trabajo se realizara.

En primer lugar a Dios, que sin sus bendiciones no hubiera tenido el temple necesario para culminar este trabajo.

Luego a mi familia más cercana, en especial a mi Querida Madre y mi hija que fueron dos grandes pilares para lograr concluir con mi objetivo, así mismo a todos mis hermanos y parientes que me brindaron su denodado aliento y apoyo.

A mi profesora asesora Ms. Otilia Acha De La Cruz, por su paciencia y buen trato, comprensión, sapiencia y profesionalismo durante todo el desarrollo de esta empresa.

A todos aquellos profesores, trabajadores y compañeros de estudio que me apoyaron desinteresadamente en el desarrollo de este trabajo.

Al Instituto de Investigación de Productos Naturales y al Jefe de Laboratorio 12 de la Facultad de Ciencias – UNI por su apoyo con reactivos y equipos.

A los jefes de los laboratorios N° 33 y Películas Delgadas por el uso de sus instalaciones y equipos.

Al Doctor Guillermo Schmeda Hirschmann Director del Instituto de Química de Recursos Naturales de la Universidad de Talca – Chile por su valioso apoyo.

## RESUMEN

La lima es un cítrico poco comercializado porque es una fruta no muy apreciada, sin embargo en las regiones donde se cultiva es consumido por personas que conocen algunas de sus cualidades específicas de esta maravillosa fruta. Así por ejemplo: el jugo es utilizado como saborizantes en bebidas y mates, como ablandador de carnes; la infusión de hojas, flores y cáscaras se emplea para curar males nerviosos y estados de alteración cardíaca. El aceite esencial se emplea en Aromaterapia (baños florales, etc.), en cosmetología (astringente), tiene propiedades antireumáticas y de relajante muscular e inclusive combate los estados de depresión y estrés.

El aceite esencial es extraído de las cáscaras de la fruta fresca de la Lima Cambray, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle por arrastre de vapor de agua, obteniéndose un aceite puro para fines alimenticios, cosméticos y medicinales.

La separación de sus componentes mayoritarios se realizó mediante cromatografía de columna y la caracterización e identificación de sus componentes principales se realizó mediante cromatografía de gases, Cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-EM), espectroscopia IR y espectroscopía UV. Para la elucidación estructural del componente mayoritario se emplearon los espectros UV, IR, GC-EM, RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C.

Se identificaron 09 componentes principales, de los cuales los mayoritarios fueron: Limoneno (60,34%), Acetato de linalilo (22,99%), β-pineno (5,08%), β-mirceno (5,08%) y (Z)-β-ocimeno (1,40%)

El aceite esencial obtenido presenta Gravedad Específica promedio 0,85088, Índice de refracción en la línea D del sodio entre 1,4679 - 1,4705 y el porcentaje de residuo de evaporación igual a 2,15 %

Estas características físicas están dentro de los parámetros internacionales que permite su comercialización.

## ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	2
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Los Aceites Esenciales	5
3.1.1. Definición	5
3.1.2. Composición de los aceites esenciales	6
3.1.3. Aplicación de los aceites esenciales	10
3.1.4. Propiedades físicas comunes de los aceites esenciales	11
3.1.5. Clasificación de los aceites esenciales	11
3.1.6. Métodos de extracción de aceites esenciales	12
3.2. Separación e Identificación de Componentes	18
3.2.1. Métodos cromatográficos	19
3.2.2. Métodos espectroscópicos	20
3.2.3. El acoplamiento de la espectrometría de masas con la cromatografía de gases.	25
IV. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. Recolección de Muestra	27
4.2. Identificación Botánica	28
4.3. Análisis Preliminar de la muestra	29
4.3.1. Marcha fitoquímica	30
4.3.2. Pruebas de identificación de metabolitos secundarios	33
4.4. Extracción del Aceite Esencial	39
4.4.1. Características del equipo	39
4.4.2. Extracción	40
4.5. Separación de Componentes del Aceite Esencial de Lima Cambray, citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.	42
4.5.1. Pruebas preliminares de cromatografía de capa fina	43
4.5.2. Cromatografía de columna	45

V.	CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL Y SUS COMPONENTES	
5.1.	Propiedades del Aceite Esencial de Lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	46
5.1.1.	Características organolépticas del aceite esencial	46
5.1.2.	Determinación de las constantes físicas del aceite esencial.	46
5.1.3.	Reacciones característica de coloración en el aceite esencial.	52
5.2.	Espectroscopia del Aceite Esencial	54
5.2.1.	Determinación del espectro IR del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	54
5.2.2.	Determinación del espectro UV del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	55
5.2.3.	Cromatografía gaseosa y cromatografía de gases acoplada a masas del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	56
5.3.	Estudio cromatográfico y espectroscópico de las fracciones eluídas por cromatografía de columna.	59
5.3.1.	Cromatogramas de los compuestos "X1" y "X2".	59
5.3.2.	Estudio espectral de los compuestos "X1" y "X2".	60
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	
6.1.	De la Muestra	63
6.2.	De la Extracción del Aceite Esencial.	63
6.3.	De las Propiedades Físicoquímicas del Aceite Esencial.	64
6.4.	De las Reacciones características de Coloración del Aceite Esencial.	64
6.5.	De la Espectroscopia del Aceite Esencial de Lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	65
6.5.1.	De Espectroscopía IR.	65
6.5.2.	De la Cromatografías de gases acoplada con espectroscopía de masas del aceite esencial.	66
6.6.	Caracterización de los compuestos "X1" y "X2".	68
6.6.1.	Por Espectroscopía IR.	68
6.6.2.	Por Espectroscopía UV	70

6.6.3. De la cromatografía de gases acoplada con masas de los compuestos "X1" y "X2".	71
6.6.4. Elucidación de la estructura molecular del compuesto "X1".	75
VII. CONCLUSIONES	81
VIII. BIBLIOGRAFÍA	82
IX. ANEXOS	85

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>		Pág.
TABLA Nº 01	Principales componentes de los aceites esenciales	9
TABLA Nº 02	Métodos de extracción utilizados en la obtención de aceites esenciales y extractos aromáticos	17
TABLA Nº 03	Clasificación de la cromatografía en columna	20
TABLA Nº 04	Resultado análisis preliminar de la muestra	30
TABLA Nº 05	Resultados de la marcha fitoquímica preliminar	38
TABLA Nº 06	Promedio del rendimiento	42
TABLA Nº 07	Pruebas de solubilidad del aceite esencial de lima en diferentes solventes	46
TABLA Nº 08	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de lima Cambray.	52
TABLA Nº 09	Resultados de las reacciones de coloración.	54
TABLA Nº 10	Principales componentes del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	58
TABLA Nº 11	Bandas de absorciones IR del compuesto "X1".	60
TABLA Nº 12	Bandas de absorciones IR del compuesto "X2".	60
TABLA Nº 13	Desplazamiento químico de RMN- <sup>1</sup> H del compuesto "X1".	62
TABLA Nº 14	Desplazamiento químico de RMN- <sup>13</sup> C del compuesto "X1".	62
TABLA Nº 15	Grupos funcionales presentes en el aceite de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	65
TABLA Nº 16	Composición porcentual del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle.	67
TABLA Nº 17	Abundancia de iones fragmentados del compuesto "X1" y del limoneno patrón referencial.	72
TABLA Nº 18	Abundancia de iones fragmentados compuesto "X2" y del acetato de linalilo patrón referencial.	74
TABLA Nº 19	Caracterización de los átomos de carbono del compuesto "X1".	77
TABLA Nº 20	Desplazamiento químico de los átomos de hidrógeno del compuesto "X1".	79



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

		Pág.
GRÁFICO Nº 01	Espectro electromagnético UV-IR	22
GRÁFICO Nº 02	Diagrama de flujo de la marcha fitoquímica	32
GRÁFICO Nº 03	Espectro IR del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.</i>	55
GRÁFICO Nº 04	Espectro UV del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.</i>	56
GRAFICO Nº 05	Cromatograma de gases del aceite esencial de lima Cambray, <i>citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.</i>	57
GRAFICO Nº 06	Espectro IR del compuesto "X1".	68
GRÁFICO Nº 07	Espectro IR del Componente "X2"	69
GRÁFICO Nº 08	Espectro de masas del compuesto "X1"	71
GRÁFICO Nº 09	Espectro de masas del Limoneno	71
GRAFICO Nº 10	Espectro de masas del compuesto "X2"	73
GRAFICO Nº 11	Espectro de masas del acetato de linalilo	73
GRÁFICO Nº 12	Espectro RNM- <sup>13</sup> C del compuesto "X1"	76
GRÁFICO Nº 13	Espectro RNM- <sup>1</sup> H del compuesto "X1"	78

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO N° 01 Estructuras de los principales componentes de los aceites esenciales	86
ANEXO N° 02 Tablas de espectroscopía	90
ANEXO N° 03 Desplazamientos químicos de los carbonos de varios monoterpenos y sesquiterpenos	96
ANEXO N° 04 Preparación de reactivos	97
ANEXO N° 05 Espectros IR del aceite esencial de lima y principales componentes.	100
ANEXO N° 06 Espectros UV del aceite esencial de lima y principales componentes.	102
ANEXO N° 07 Espectros CG-CG/EM del aceite esencial de lima Cambray y principales componentes.	104
ANEXO N° 08 Cálculo de la composición porcentual del aceite esencial de lima Cambray	114
ANEXO N° 09 Espectros CG/EM de los compuestos "X1" y "X2"	117
ANEXO N° 10 Espectros de resonancia magnética nuclear del compuesto "X1"	119
ANEXO N° 11 Aplicaciones del aceite esencial de lima	120
ANEXO N° 12 Equipo de extracción por arrastre de vapor y otros	122
ANEXO N° 13 Fotografías del limero, hojas, flores y frutos	124
ANEXO N° 14 Constancia de identificación botánica de la lima Cambray	125

## I. INTRODUCCIÓN.

El aceite esencial es una mezcla de componentes volátiles producto del metabolismo secundario de las plantas. Se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor.

Se han desarrollado tecnologías para la extracción de distintas sustancias de los frutos los cuales van a servir para la industria alimenticia, farmacéutica y cosméticas por sus propiedades naturales. Este es el caso de los aceites esenciales, ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utilizan, además, en jabones, desinfectantes y productos similares. También tienen importancia en medicina, tanto por su sabor como por su efecto calmante del dolor y su valor fisiológico. Muchos aceites esenciales tienen aplicaciones en la industria de los sabores siendo las más comunes los aceites de especias como la menta, hierba buena y los aceites cítricos como es el caso del aceite esencial de lima, cuyo uso se limita a la preparación de bebidas gaseosas y licores, sin embargo en medicina natural (Aromaterapia) recién le han encontrado sorprendentes aplicaciones para combatir los estados de apatía, desánimo, depresión; serena y anima una mente cansada, es decir, combate el estrés.

El objetivo general es obtener el aceite esencial de la corteza de la Lima Cambray (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) mediante destilación por arrastre de vapor de agua, para luego caracterizar los componentes volátiles e identificar el o los componentes activos principales mediante espectroscopia infrarroja, ultravioleta, cromatografía gaseosa y cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear protónica y de carbono 13, así como también determinar sus principales parámetros fisicoquímicos, los cuales son principales indicativos para su comercialización en el mercado exterior.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

Los cítricos existen desde hace 20 millones de años y su origen está en el sudeste asiático, Persia (Irán), Malasia. De ahí durante la Edad Media y con las cruzadas llegaron a España y al norte de África. Desde entonces se han extendido por todo el mundo y han evolucionado de muy distintas maneras, saliendo muchas variedades.<sup>26</sup>

Las limas son frutos cítricos y su árbol es el limero. Se desarrollan en climas templados. En el Perú se están cultivando en regiones tropicales y subtropicales (Nor oriente).

La lima es una fruta del género *Citrus* que pertenecen a la familia de las Rutáceas. Esta familia comprende más de 1600 especies. El género botánico *Citrus* es el más importante del grupo y consta de unas 20 especies con frutos comestibles todos ellos muy abundantes en vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Los frutos, llamados hespérides, tienen la particularidad de que su endocarpio está formado por numerosas vesículas llenas de jugo.

Los aceites esenciales de limas provenientes de la cáscara han sido ampliamente estudiados (Guzmán, 1970; Shaw, 1976; Alessandro, 1985; Khurdiya, 1988; Pino, 1988; Mondello, 1995a; Njoroge, 1996; Lawrence, 1982, 1985a, 1991, 1996). En limas ácidas fueron investigadas (*Citrus aurantifolia* Swing y *Citrus latifolia* Tan.) (Haro, 1985; Dugo, 1997; Lota, 2002).<sup>2</sup>

A pesar de ello existe muy poca información disponible de estos estudios realizados o en el mejor de los casos se tiene informes generales de la caracterización de los componentes de estos aceites.

En el aceite esencial de la lima Tahiti, *Citrus latifolia* Tanaka (Njoroge et al., 1994a,b, 1995, 1996)<sup>5</sup> se ha reportado 52,2% de limoneno; en lima Kafir, *Citrus hystrix* 66% de Citronelal<sup>26</sup>. En lima Key, *Citrus*

aurantifolia (Christm.) Swingle, cultivada en México, se reporta que su aceite esencial está constituido por monoterpenos: camfeno, carveno, cimeno, cineol, citronelol, dimetil estireno, felandreno, geraniol, limoneno, nerol, alfa y beta-pineno, pinocarveol, iso-piperitenol, piperitona, salimeno, sabinol, terpineno, terpineol, terpinoleno y verbenol. Además, se identifican los sesquiterpenos, bergamopteno, beta-bisaboleno, alfa-bisabolol, alfa-cadenol, beta cariofileno, farnesol, farnesol, y las cumarinas: la isoimperatorina, limetina, oxi-hidrato de pencedonina felopterina, iso-pimpinolina y geranil- psoralen (México, INI, 1994) <sup>21</sup>

El aceite esencial de lima Rangpur (Belén A. Acevedo)<sup>2</sup> presenta  $\alpha$ -pineno 0,4%; sabineno;  $\beta$ -Pineno 4,3%;  $\beta$ -mirceno 1,2%; octanal 0,2%;  $\alpha$ -terpineno 0,2%; limoneno 68,8%;  $\beta$ -(Z)-ocimeno,  $\beta$ -(E)-ocimeno 0,2;  $\gamma$ -terpineno 13,1%; hidrato de (Z)-sabineno;  $\alpha$ -terpinoleno 0,6%; hidrato de (E)-sabineno; linalol 0,4%; citronelal 1%;  $\alpha$ -terpineol 0,6%; decanal 0,1%; neral 0,1%; geranial 0,1%;  $\beta$ -cariofileno 0,8%;  $\beta$ -(Z)-farneseno 1,1%;  $\beta$ -(E)-farneseno 0,2%; germacreno D 0,6%;  $\beta$ -bisaboleno 2,5%. El 88,8% de hidrocarburos monoterpénicos, un 2,5% de monoterpenos oxigenados, un 5,2% de hidrocarburos sesquiterpénicos, no presentando sesquiterpenos oxigenados. De los hidrocarburos monoterpénicos el limoneno es el que se encuentra en mayor proporción (68,8%), seguido por el  $\alpha$ -terpineno (13,1%) y el  $\alpha$ -Pineno (4,3%).

Lota (2002) estudió el aceite esencial de lima Rangpur en distintos estados de maduración siendo el limoneno el principal componente, presentando en el estado maduro un 62% de dicho componente, seguido por  $\alpha$ -Pineno (14,6%) y  $\alpha$ -terpineno (4,6%). Este último disminuye durante el período de maduración, mientras que el p-Cimeno presenta un comportamiento inverso concomitante.

El limoneno es el principal componente de aceites esenciales de los frutos cítricos. Así por ejemplo el su contenido en el pomelo (citrus

paradisi Macfadyen) 91,1% (Njoroge, 2005); limón (citrus limón Eureka) 70,5% (Lota, 2002); calamondin (citrus mitis Blanco) 91,26% (Moshonas, 1996); lima de Persia (citrus latifolia Tanaka) 49,35%; Lima Key (citrus aurantifolia Swingle) 56,65% (Dugo, 1997).<sup>2</sup>

Muchos aceites esenciales de los cítricos tienen como componente principal al limoneno y los demás componentes son diversos e inclusive varían de una especie a otra.

El análisis de los componentes del aceite esencial Lima Rangpur se realizó por métodos cromatográficos, utilizando CG/FID y CG/EM para determinar la proporción e identidad de los constituyentes, Los patrones de fragmentación de cada componente se compararon con los almacenados en la biblioteca de espectros del software (Adams, 2001; Mc Lafferty, 1991)<sup>2</sup>

M.C Colecio Juárez realizó la extracción mediante arrastre por vapor del aceite esencial de una variedad de lima dulce (citrus limetta) caracterizándolo mediante método cromatográfico usando un espectrómetro de masas y analizado a partir de la norma NMX-F-062-1974, indicó que su principal componente es el limoneno. No existe mayor información sobre la caracterización del aceite esencial de este cítrico.<sup>6</sup>

Finalmente se encontró que María G. Chávez y colaboradores estudiaron las características fisicoquímicas de jugos de lima Rangpur (*citrus limonia* Osbeck) cultivados en Corrientes-Argentina, destinados a la preparación de bebidas analcohólicas.<sup>4</sup>

### **III. MARCO TEÓRICO.**

#### **3.1. Los Aceites Esenciales.**

##### **3.1.1. Definición.**

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.

Los aceites esenciales son componentes volátiles que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales. Estas sustancias son responsables del aroma de las plantas y hoy en día son muy importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

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 esenciales pueden estar asociados formando mezclas con otros productos naturales como es el caso de las resinas y productos relacionados.

##### **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, sasafrás, valeriana, vetiver, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón,

mandarina, naranja, lima, 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.). Así por ejemplo el aceite de espliego, procede de una flor, el aceite de pachulí, de una hoja, y el aceite de limón, del pericarpio de un fruto.

Los aceites esenciales se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, principalmente a los brotes en flor. Se desconoce la función exacta de un aceite esencial en un vegetal; puede ser para atraer los insectos para la polinización, o para repeler a los insectos nocivos, o puede ser simplemente un producto metabólico intermedio. Aunque en los aceites esenciales tanto los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos se les encuentran en forma libre, más recientemente se han investigado que están ligados a carbohidratos, ya que se considera que son los precursores inmediatos del aceite como tal.<sup>14</sup>

### 3.1.2. Composición de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos. Los principales componentes responsables del aroma de los aceites esenciales son los *terpenos*.

Los terpenos, denominación genérica de una serie de compuestos naturales que formalmente se pueden considerar polímeros del isopreno. El isopreno (2-metil-1,3-butadieno), de fórmula empírica  $C_5H_8$ , es un hidrocarburo doblemente insaturado que se emplea como bloque unidad de cinco carbonos en la biosíntesis de los terpenos, activado por fosforilación en forma de isopentenilpirofosfato ("isopreno activo").



Tomando como unidad de terpeno la de 10 átomos de carbono (dos unidades de isopreno), se distingue entre monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>), etc. Además de la simple combinación de las moléculas de isopreno para formar hidrocarburos, en la naturaleza también tienen lugar reacciones posteriores de formación de anillos, desplazamiento, oxidación o sustitución. Los alcoholes, aldehídos, ésteres de ácidos carboxílicos y otros compuestos así formados contribuyen a la gran diversidad química que presenta este grupo.

Según el número de anillos que contienen, también se pueden clasificar en terpenos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos. A menudo presentan actividad óptica, lo que se indica especificando el ángulo de giro (+/-) y la configuración relativa (D/L).

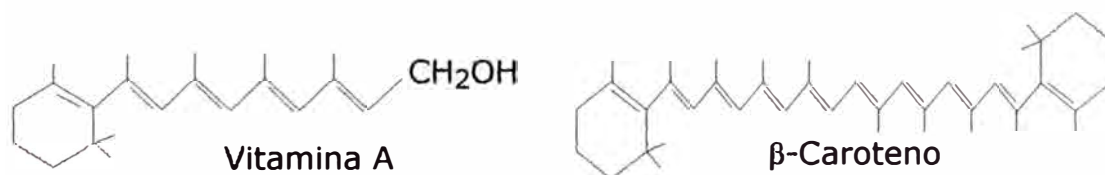
Los terpenos se encuentran sobre todo en las plantas, de cuyas flores, hojas o frutos se obtienen en forma de aceites esenciales mediante diversas técnicas. En los organismos animales son más raros, y actúan fundamentalmente como precursores en la síntesis de esteroides. La síntesis química de los terpenos es a menudo muy laboriosa y suele partir de un terpeno natural. Muchos terpenos tienen un olor y sabor característicos y se utilizan en perfumería o en la industria alimentaria.

Un ejemplo de alcohol monoterpénico acíclico es el geraniol (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O). Este alcohol es uno de los principales componentes del aceite de rosas, siendo responsable de su olor característico, por lo que se utiliza como aroma. El aldehído correspondiente, el citral, está presente en el aceite esencial de limón, y tiene un olor cítrico. Un alcohol terpénico monocíclico muy conocido es el (-)-mentol (C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O), que se obtiene a partir del aceite de menta. Presenta un característico sabor mentolado y además excita los receptores de frío de la piel, produciendo sensación de frescor, por lo que se utiliza, por ejemplo, en colutorios bucales.

Entre los monoterpenos cuantitativamente más importantes figuran los hidrocarburos bicclicos  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno ( $C_{10}H_{16}$ ), que se obtienen a partir de la resina de diversas especies de pinos en forma de esencia de trementina. Estos compuestos se emplean como materias primas para barnices, pero también constituyen el punto de partida para la síntesis de otros terpenos más difíciles de aislar. Por ejemplo, a partir del  $\alpha$ -pineno se puede obtener de forma relativamente sencilla el alcanfor, que existe en la naturaleza en la madera del alcanforero. El alcanfor ( $C_{10}H_{16}O$ ) es una cetona bicíclica, que además de su uso médico como antiséptico también se emplea, mezclada con nitrocelulosa, como gelificante en la producción de celuloide.

Un representante de los sesquiterpenos es el alcohol acíclico farnesol ( $C_{15}H_{26}O$ ), un líquido incoloro que se emplea como aroma por su olor a muguete.

Un diterpeno conocido es la vitamina A1 ( $C_{20}H_{30}O$ ), contenida en la leche y en el aceite de hígado de bacalao. El  $\beta$ -caroteno ( $C_{40}H_{56}O$ ) tiene una estructura similar a la de la vitamina A1; este tetraterpeno es un sólido rojo, que se puede obtener a partir de las zanahorias y se emplea como colorante en la industria alimentaria. Los carotenoides (esto es, las sustancias similares al caroteno) están muy difundidos en la naturaleza. Poseen un gran número de dobles enlaces conjugados, por lo que suelen ser sustancias coloreadas.



De manera general los principales componentes de los aceites esenciales se muestran en la siguiente tabla.

**TABLA Nº 01****Principales componentes de los aceites esenciales.**

<b>Funciones</b>	<b>Sustancias</b>
Ésteres	De ácido benzoico, acético, salicílico y cinámico.
Alcoholes	Linalol, geraniol, citronelol, terpinol, mentol, borneol.
Aldehídos	Citral, citronelal, benzaldehído, cinamaldehído, aldehído cumínico, vainillina.
Ácidos	Benzoico, cinámico, mirístico, isovalérico todos en estado libre.
Fenoles	Eugenol, timol, carvacrol.
Cetonas	Carvona, mentona, pulegona, irona, fenchona, tujona, alcanfor, metil nonil cetona, metilheptenona.
Éteres	Ciñelo, éter interno (eucaliptol), anetol, safrol.
Lactonas	Cumarina.
Terpenos	Canfeno, pineno, limoneno, felandreno, cedreno.
Hidrocarburos	Cimeno, estireno (fenil etileno).

De acuerdo a los datos bibliográficos encontrados, el principal componente de los cítricos estudiados es el limoneno que en la naturaleza se encuentra formando dos estructuras estereoisómeras: D-limoneno y el L-limoneno. También indican que el porcentaje de D-limoneno es mayor que el de L-limoneno excepto en el aceite esencial de naranja, donde el L-limoneno se encuentra en mayor proporción. Otros componentes encontrados en proporciones apreciables son el  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno.<sup>1,2,5,6,9,11,24,18,21</sup>

El limoneno se presenta en tres formas: dextrógira, levógira y racémica. En los tres casos el punto de ebullición es de 176 °C, su peso molecular es 136,21 g/mol. Pertenece al grupo de los terpenos.<sup>21</sup>

Industrialmente el limoneno se utiliza para producir p-cimeno por deshidrogenación catalítica. En los últimos años su demanda ha experimentado un gran crecimiento para su uso como disolvente

biodegradable y también tiene aplicaciones como componente aromático y es ampliamente usado para sintetizar nuevos compuestos.

Puesto que es un derivado de los cítricos, el limoneno se considera un agente de transferencia de calor limpio y ambientalmente inocuo con lo cual es utilizado en muchos procesos farmacéuticos y de alimentos.

El limoneno es usado, por ejemplo, en disolvente de resinas, pigmentos, tintas, en la fabricación de adhesivos, etc. También es usado por las industrias farmacéutica y alimentaria como componente aromático y para dar sabor, siendo usado, por ejemplo, en la obtención de sabores artificiales de menta y en la fabricación de dulces y goma de mascar.

Recientes estudios parecen apuntar que el limoneno tiene efectos anticancerígenos. Incrementa los niveles de enzimas hepáticos implicados en la detoxificación de carcinógenos. La glutatión S-transferasa (GST) es un sistema que elimina carcinógenos. El limoneno parece promover el sistema GST del hígado y los intestinos atenuando el efecto dañino de los carcinógenos. Estudios en animales demuestran que limoneno en la dieta reduce el crecimiento tumoral en mamíferos.<sup>21</sup>

Las estructuras de los principales componentes de los aceites esenciales se muestran en el Anexo N° 01.

### **3.1. 3. Aplicación de los aceites esenciales.**

Los aceites esenciales se utilizan para dar sabor y aroma al café, el té, los vinos y las bebidas alcohólicas. Son los ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utilizan en jabones, desinfectantes y productos similares. También tienen importancia en medicina, tanto por su sabor como por su efecto calmante del dolor y su valor fisiológico. (Ver Anexo N° 11 sobre aplicaciones del aceite esencial de lima).

### 3.1.4. Propiedades físicas comunes de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. Por lo general no son oleosos al tacto.

### 3.1.5. Clasificación de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se clasifican de acuerdo a diferentes criterios:

#### A) Según su consistencia.

Se clasifican en:

- **Esencias fluidas:** Son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Aceite de limón, hierba buena, flores, etc.
- **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.
- **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.).

#### B) Según su origen.

Se clasifican como:

- **Naturales:** Se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas.
- **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.

- **Sintéticas:** 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.).

### C) Según su naturaleza química.

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.

- **Monoterpénicos:** Son los aceites esenciales ricos en monoterpenos por ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.
- **Sesquiterpénicos:** Son los aceites esenciales ricos en sesquiterpenos por ej. copaiba, pino, junípero, etc.
- **Fenilpropanoides:** Son los aceites esenciales ricos en fenilpropanos por ej. clavo, canela, anís, etc.

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.<sup>14</sup>

#### 3.1.6. Métodos de extracción de aceites esenciales.

Existen diversos métodos para extraer los aceites esenciales, utilizar alguno de ellos depende fundamentalmente del tipo de muestra a tratar y el uso que se le va dar.<sup>14</sup>

##### a) Por expresión.

El material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencia de cítricos.

## **b) Extracción por arrastre de vapor de agua.**

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, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa.

Se caracteriza por necesitar bajo capital para adquirir los equipos y accesorios. Inclusive pueden ser móviles y usar diversas fuentes de energía: Proceso simple, versátil y flexible. Además permiten trabajar con volúmenes grandes de materia prima en cada corrida. Incluso sin tratamiento previo. El tiempo de extracción no se altera, aunque si el rendimiento.

Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, como las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la alta pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada. Aunque se produce degradación térmica en el aceite esencial obtenido, es decir, se inducen cambios químicos indeseables, como oxidación, hidrólisis y oligomerización y tiene altos costos operativos por carga de materia prima, debido a la necesidad de energía para producir el vapor de agua.

## **c) Extracción por solvente.**

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias.

El rendimiento es casi del doble de la extracción por arrastre con vapor de agua, se obtienen “prácticamente todos” los compuestos presentes en la matriz herbácea: Volátiles, grasas, ceras, pigmentos, etc.

Amerita usar equipos de vacío para obtener los aceites absolutos. Estos equipos poseen altos costos operativos en comparación con los de extracción por arrastre.

El uso de solventes orgánicos como alcoholes, hidrocarburos, éteres, etc. conlleva a establecer varias etapas adicionales de purificación si la esencia va a ser para el consumo o higiene humana. Normas internacionales de calidad imponen límites muy exigentes en este aspecto. Esta restricción ha provocado buscar nuevos solventes y optimizar al máximo su recuperación, pero también ha elevado su costo y su aplicación.

#### **d) Extracción por centrifugación.**

Los aceites esenciales obtenidos por este proceso tienen características aromáticas superiores a los conseguidos por extracción por arrastre de vapor, gracias a no ser un proceso térmico. Los aceites obtenidos son más estables debido a los antioxidantes naturales presentes.

Sin embargo, la fricción interna de la materia prima provoca un aumento de temperatura no controlable que conlleva a una degradación térmica y a un oscurecimiento del aceite. La anterior consecuencia provoca usar equipos de purificación adicionales para que el aceite cumpla con las normas internacionales de calidad. Estos equipos poseen altos costos operativos e incrementan el precio final del producto.



#### **e) Extracción por effleurage.**

En el método de enflorado o effleurage el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla (concreto) de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios fisicoquímicos. En general se recurre al agregado de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (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.

#### **f) Extracción por fluido supercrítico (EFS).**

Es otra posibilidad conocida hace mucho tiempo, pero poco explotada, es la de uso de fluidos supercríticos como disolventes extractores.

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 CO<sub>2</sub>). Las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el fluido supercrítico, que actúa como solvente extractor, se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción.

El anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>) presenta condiciones supercríticas de temperatura (31,1 °C), presión (72 atmósferas) y densidad (0,47) que son muy asequibles. En estas condiciones el CO<sub>2</sub> adquiere poder de solvatación (una propiedad típica de los líquidos) y puede ser usado como disolvente de muchos componentes aprovechando,

además, su baja densidad, alto coeficiente de difusión, gran penetrabilidad y elevada velocidad de extracción. La eliminación del solvente para aislar al ingrediente puro extraído es muy sencilla, basta con reducir la presión y el fluido supercrítico se convierte en gas que se eliminará espontánea y totalmente.

Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones.

Los diferentes procesos o métodos de extracción utilizados en la obtención de aceites esenciales y extractos aromáticos, se resume en la siguiente tabla.

**TABLA Nº 02**

**Métodos de extracción utilizados en la obtención de aceites esenciales y extractos aromáticos**

Método	Procedimiento		Productos obtenidos
1. Métodos directos	a) Expresión	Compresión de cáscaras	Aceites esenciales cítricos.
		Raspado de cáscaras	
	b) Exudado	Lesiones mecánicas en cáscaras	Aromas, resinas, bálsamos.
2. Destilación	a) Directa		Aceites esenciales y aguas aromáticas.
	b) Por arrastre con vapor (directo, indirecto, a presión, a vacío)		
	c) Destilación-maceración (liberación enzimática de aglicomas en agua caliente)		Almendras, mostaza, ajo, hojas de abedul.
3. Extracción con solventes	a) Solventes volátiles	En caliente	Infusiones y resinoides alcohólicos en caliente, oleorresinas.
		En frío	Concretos y absolutos resinoides en frío, oleorresinas.
	b) Solventes fijos (grasas y aceites)	En caliente	Pomadas en caliente, lavados y absolutos de pomadas.
		En frío	Pomadas en frío, lavados y absolutos de enflorados.
	4. Procesos de extracción con fluidos en condiciones subcríticas y supercríticas.		

### 3.2. Separación e Identificación de Componentes.

La mayoría de monoterpenos y sesquiterpenos se encuentran presentes en los aceites esenciales de diversas plantas. A partir de dichos aceites es posible realizar su aislamiento mediante la utilización de uno o varios métodos cromatográficos tales como la cromatografía en columna, en capa fina y HPLC. Para las cromatografías en columna y en capa fina se utiliza ampliamente la sílica gel como fase estacionaria. Como fase móvil se emplea solventes apolares puros o mezclados. Sin embargo actualmente se utilizan técnicas de separación más eficientes y rápidas como la cromatografía líquida de alta eficiencia, HPLC (por sus siglas en inglés) y la cromatografía de gases (CG), así como también combinaciones "online" HPLC-CG-EM.

Esta última técnica gracias al desarrollo reciente de columnas capilares de alta resolución, permite analizar mezclas complejas presentes en aceites esenciales, e identificar los componentes a partir de los tiempos de retención a través de los denominados Índices de Retención de Kovats (IK). Estos valores son característicos para cada componente y existen bases de datos con los índices de muchos componentes de aceites esenciales. Los valores IK se determinan en dos columnas cromatográficas una polar (por ejemplo Carbowax 20M) y una apolar (por ejemplo SE-52, DB-5).

Adicionalmente, la técnica acoplada Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG/EM), permite obtener el espectro de masas de cada componente con el cual se obtiene el peso molecular e información estructural. Así mismo 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 asignación química de muchos componentes de aceites esenciales, no solo monoterpenos sino también otros tipos de sustancias características de dichos aceites.

Más recientemente se han desarrollado columnas cromatográficas quirales para la separación de componentes ópticamente activos, y se han desarrollado métodos para el análisis combinado HPLC/EM y HPLC/RMN de mezclas de sesquiterpenos.<sup>14</sup>

### 3.2.1. Métodos cromatográficos.

El fundamento de la mayoría de las técnicas cromatográficas es un equilibrio de fases. El soluto se distribuye entre una fase móvil y una fase estacionaria.

La cromatografía es una técnica de separación fundamentada en la diferente interacción de los analitos entre dos fases inmiscibles: los componentes de una mezcla son arrastrados a través de una fase estacionaria mediante el flujo de una fase móvil; en la cromatografía en columna, la *fase móvil*, que puede ser un gas inerte o un disolvente en el cual se encuentran disueltos los analitos inicialmente, pasa a través de una columna que contiene la *fase estacionaria*, la cual puede ser un líquido o un sólido (Tabla Nº 03).

Los analitos que interaccionan más fuertemente con la fase estacionaria eluirán de la columna más tarde que los que interaccionan más débilmente. El tiempo en el cual el analito es detectado en la salida de la columna se llama tiempo de retención, el cual es característico de cada sustancia; este hecho no excluye que dos sustancias tengan el mismo tiempo de retención (TR). Por tanto, el resultado final es la visualización de una serie de picos situados a un lado de un cromatograma.

**TABLA Nº 03**

**Clasificación de la cromatografía en columna**

Clase de cromatografía en columna		Fundamento
Gases (CG)	Gas-Líquido CGL	La muestra es arrastrada por un gas inerte a través de la columna, donde la fase estacionaria es un líquido.
	Gas-Sólido CGS	La muestra es transportada por un gas inerte a través de la columna, donde la fase estacionaria es un sólido.
Líquida (CL)	Líquido-Líquido CLL	El analito se distribuye entre dos fases líquidas inmiscibles
	Líquido-Sólido CLS	El analito es contenido en una fase líquida (móvil) e interacciona con una fase sólida (estacionaria) mediante proceso de absorción.
	Intercambio iónico	Los analitos se encuentran en forma iónica y son intercambiados con los contraiones de la fase estacionaria
	Exclusión	Los analitos se separan según su tamaño, debido al movimiento a través de unos poros.

**3.2.2. Métodos espectroscópicos.**

**a) Resonancia magnética nuclear o RMN.**

Técnica desarrollada en la década de 1950 por el físico estadounidense nacido en Suiza Félix Bloch para el análisis espectroscópico de sustancias. En la RMN se coloca una sustancia en un campo magnético intenso que afecta al espín de los núcleos atómicos de algunos isótopos de elementos comunes. Después se hace pasar a través de la sustancia una onda de radio que reorienta los núcleos. Cuando se desconecta la onda, los núcleos liberan un pulso de energía que proporciona información sobre la estructura

molecular de la sustancia y que puede ser transformado en una imagen mediante técnicas informáticas.

Gracias a los desarrollos de la resonancia magnética nuclear se cuenta con bases de datos de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$  para los monoterpenos y sesquiterpenos más frecuentes. En el Anexo N° 03 se presentan los desplazamientos químicos de los carbonos de varios monoterpenos y varios sesquiterpenos y en el Anexo N° 02 se muestran las tablas con datos espectroscópicos que ayudaran en la elucidación de estructuras.

## **b) Espectroscopía UV.**

Los átomos se encuentran comúnmente en su estado de mínima energía, llamado el estado normal. Cuando un átomo es excitado por absorción de radiación o por colisión con partículas excitadas, tales como electrones iones o moléculas, su estado de excitación perdura solamente un tiempo muy breve (del orden de  $10^{-9}$  segundos) antes de que pierda parte de su energía, o toda ella, por intercambio con otra partícula o por emisión de un fotón. Los espectros de las sustancias se observan generalmente solo emisión, puesto que la mayor parte de las sustancias no se presentan como átomos libres y por lo tanto los espectros atómicos solo se pueden obtener sometiéndolos a fuentes de energía muy elevada.

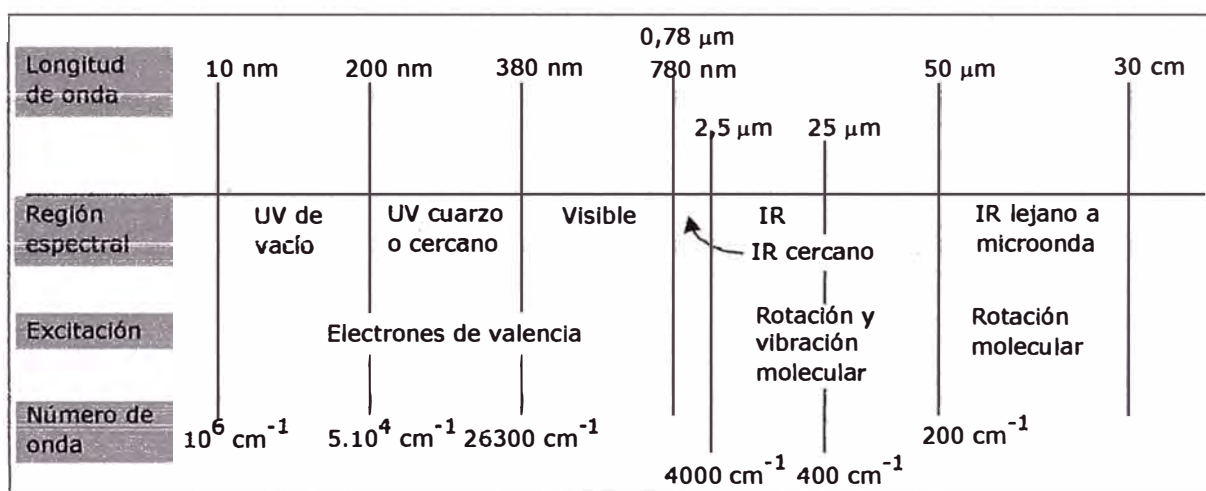
Las variaciones de la configuración electrónica y los cambios de energía correspondientes que tienen lugar en moléculas completas, dan lugar a los espectros ultravioleta y visible e incluso al infrarrojo próximo.

La absorción molecular en el ultravioleta (UV) y región visible del espectro dependen de la estructura electrónica de la molécula. Para varias estructuras electrónicas, la absorción no ocurre fácilmente en la porción accesible de la región UV. En la práctica, la

espectroscopía UV es normalmente limitada a sistemas conjugados. Hay, sin embargo, una ventaja en la selectividad de la absorción UV: grupos característicos pueden reorganizarse en moléculas de diversas complejidades. Una gran porción de una molécula relativamente compleja puede ser transparente en la región UV de esta manera podemos obtener un espectro similar a aquel de muchas moléculas simples.

La porción UV en el espectro electromagnético esta indicado en el siguiente gráfico:

**GRÁFICO Nº 01**  
**El espectro electromagnético UV-IR**



Primeramente estamos interesados en el UV cercano, región extendida de 200 a 380 nm. La atmósfera es transparente en esta región y los lentes de cuarzo pueden ser utilizados para escanear entre 200 a 380 nm.

El espectro UV de los monoterpenos y sesquiterpenos permite el reconocimiento de grupos funcionales y grupos cromóforos. Por ejemplo el limoneno presenta un máximo de absorción en 262 nm ( $\epsilon=6400$ ). En general, la espectrofotometría ultravioleta tiene una utilidad limitada en el estudio de la gran mayoría de los aceites esenciales terpénicos, ya que pocos terpenos tienen grupos



cromóforos. Sin embargo, en la fracción no volátil de los aceites esenciales cítricos se encuentran componentes carotenoides o con núcleos heterocíclicos oxigenados (cumarinas, furocumarinas sustituidas y polimetoxiflavonas), lo que da a estas esencias un comportamiento característico en el UV. Esta particularidad se ha utilizado para la puesta a punto de métodos que permite evaluar la calidad y la genuinidad, identificar el origen geográfico de una muestra, la tecnología empleada para su extracción o la época de producción del aceite. <sup>14</sup>

### c) Espectroscopía IR.

Relativamente pocos compuestos presentan bandas de absorción en las regiones del espectro correspondientes al visible y al ultravioleta mientras que por el contrario casi todos absorben en el infrarrojo. Las energías absorbidas en esta región son características de las vibraciones de los átomos en la molécula que pueden tener lugar en la propia dirección de los enlaces, recibiendo entonces el nombre de vibraciones de alargamiento o tensión, o en direcciones transversales a la del enlace, llamadas vibraciones de flexión.

Además cuando se absorbe radiación infrarroja de menor energía, esta también produce rotación de las moléculas.

La espectroscopía infrarroja o IR, es un tipo de espectroscopía donde se analizan las vibraciones moleculares y estudia la interacción entre la radiación infrarroja y la materia.

Se suele considerar que la radiación infrarroja comprende un intervalo de longitudes de onda de 0,75 a 1000  $\mu\text{m}$  (números de ondas de 13000 a 10  $\text{cm}^{-1}$ ). (Gráfico N° 01)

En el Anexo N° 02 se presenta una tabla con las bandas características de algunos grupos atómicos.

Si las bandas características de cada grupo atómico fuesen únicas e invariantes en su posición en el espectro de todas las sustancias que contienen ese grupo, sería posible determinar con certeza la presencia o ausencia de cualquier grupo atómico en un compuesto por la medida de su espectro infrarrojo. Sin embargo esto no ocurre, sino que una misma banda puede deberse a distintos grupos atómicos en moléculas distintas, y por otra parte, la posición de las bandas características varía ligeramente al variar la naturaleza de los radicales unidos al grupo atómico considerado. Esta desventaja se corrige usando las tablas de correlación que contienen datos de grupos atómicos de una serie de compuestos.

El espectro infrarrojo permite detectar la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles C=C cis y trans, etc.<sup>14</sup>

#### **d) Espectrometría de masas.**

Espectrómetro de masas, aparato que convierte moléculas en iones, y que separa estos iones en función de su proporción de masa y carga. Los espectrómetros de masas se utilizan para identificar átomos e isótopos, y determinar la composición química de una muestra.

Todos los espectrómetros de masas cuentan con cuatro características comunes:

- (1) Un sistema para introducir la sustancia que se desea analizar en el instrumento.
- (2) Un sistema para ionizar la sustancia
- (3) Un acelerador que dirige los iones hacia el instrumento de medida.
- (4) Un sistema para separar los distintos iones analizados y para registrar el espectro de masas de la sustancia.

Los espectrómetros de masas pueden proporcionar un alto grado de resolución como ayuda a los análisis de mezclas complejas. Por ejemplo, los productos del refinado y procesamiento del petróleo, que contienen normalmente hidrocarburos muy similares, son difíciles de separar con métodos de análisis químico convencionales, pero pueden ser aislados y analizados con un espectrómetro de masas. Se consigue una mayor precisión con espectrómetros de masas en serie, que consisten en varios espectrómetros colocados uno tras otro. En el campo de la biología molecular, los espectrómetros en serie (con dos espectrómetros de masas) permiten determinar en pocos minutos la secuencia lineal de los aminoácidos de una proteína. Estos espectrómetros de masas son más de mil veces más precisos que un dispositivo único, lo que hace que resulten muy útiles para analizar cantidades muy pequeñas de compuestos biológicos con masas moleculares muy altas. Los dispositivos más sensibles que pueden emplearse en la espectrometría de masas son los aceleradores electrostáticos en serie, que comprenden varios espectrómetros de masas dispuestos

### **3.2.3. El acoplamiento de la espectrometría de masas con la cromatografía de gases.**

El cromatógrafo de gases separa las mezclas complejas en sus componentes y el espectrómetro de masas permite la identificación de compuestos a medida que éstos van eluyendo de la columna cromatográfica. Y dado que el espectrómetro de masas proporciona un registro selectivo de iones, permite la detección de compuestos de interés con la máxima sensibilidad.

En términos generales, el proceso analítico para la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas comprende las siguientes fases:

- 1) Obtención de un pico con la resolución adecuada.
- 2) Selección del pico cromatográfico de interés.

- 3) Obtención del espectro de masas del compuesto correspondiente al pico seleccionado.
- 4) Identificación del compuesto según el espectro de masas presentado.
- 5) Cuantificación según la abundancia absoluta del pico: usualmente, los programas informáticos que proporcionan el espectro de masas representan en el eje de ordenadas la abundancia absoluta en vez de la relativa, pudiendo así proceder a la cuantificación.

La técnica acoplada CG/EM 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 CG/EM, 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.<sup>14</sup>

#### **IV. PARTE EXPERIMENTAL.**

Se realizaron en los ambientes del Laboratorio N° 12 y de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI).

Los espectros IR se tomaron en el Laboratorio de Películas Delgadas-Facultad de Ciencias-UNI.

Los espectros UV en Laboratorio N° 33-Análisis Instrumental- Facultad de Ciencias-UNI.

La cromatografía de gases, espectrometría de masas y de resonancia magnética nuclear se realizaron en el Laboratorio Análisis Instrumental del Instituto de Química de Recursos Naturales de la Universidad de Talca en la República de Chile.

##### **4.1. Recolección de la Muestra.**

La muestra se recolectó en horas de la mañana (8:30) en la localidad de Trapichillo, que se sitúa a 500 m.s.n.m. en el distrito de Cumba, Provincia de Utcubamba en la Región de Amazonas-Perú

Fecha de recolección: 09 de abril 2007

Se recolectaron aproximadamente 160 Kg de frutos maduros pero aun sin amarillear (verdosos).

## 4.2. Identificación Botánica.

Fue realizado por la Mg. Joaquina Albán Castillo en el Herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Ver constancia expedida en el Anexo N° 14)

- División : Magnoliophyta  
Clase : Magnoliopsida  
Subclase : Rosidae  
Orden : Sapindales  
Familia : Rutaceae  
Género : Citrus  
Especie : Citrus aurantifolia  
(Christm.) Swingle
- Nombre : "lima" variedad *Cambray*  
común
- Origen : Suroeste asiático
- Porte : Árbol que llega a alcanzar aproximadamente 5 metros de altura.
- Hojas : Sin alas y desprende olor característico (a lima)
- Flores : De color blanco.
- Fruto : Hesperidio, de forma oval y esférica, con corteza o exocarpio delgada, de color amarillo verdoso, mesocarpio blanco delgado y endocarpio carnoso, ligeramente ácido, jugoso de color entre amarillo a verde.
- Jugo : Contiene bioflavonoides importantes por su acción antioxidante y pequeñas cantidades de vitamina C. Fue el remedio utilizado para prevenir el escorbuto muchos antes de que se acuñase el término vitamina y, por tanto, de que se supiese que el limón contiene dicha sustancia en mayor cantidad.

Fotografías del limero, hojas, flores y frutos en el Anexo N° 13

### 4.3. Análisis Preliminar de la Muestra.

Para este análisis se tomó 2 Kg. de limas y se procedió a quitarle las pieles empleando un pelador. Lo pesamos y llevamos a sequedad a temperatura ambiente para luego llevarla a molienda. La muestra seca y pulverizada se empleó para determinar el porcentaje de humedad y cenizas; así como también para realizar la marcha fitoquímica.

#### a) Humedad.

Se pesa 1,0 gramos de cáscara seca y molida, se llevó a estufa durante 1 hora a 100–150 °C. Se deja a enfriar y se pesa hasta obtener peso constante. Se trató por triplicado.

Muestra	Peso húmedo	Peso seco
1	1,0028 g	0,2969g
2	0,9876 g	0,2924 g
3	1,0124 g	0,2998 g
Peso promedio:	1,0009 g	0,2964 g
<b>Porcentaje de humedad:</b>		<b>29,61%</b>

#### b) Cenizas.

Se pesaron aproximadamente 2 gramos de muestra seca, se colocó en una mufla durante 2,5 horas a 800 °C. Se deja a enfriar y se pesa hasta obtener peso constante. Se trató por triplicado.

Muestra	Peso seco	Peso cenizas
1	2,0927 g	0,0856 g
2	2,0078 g	0,0828 g
3	2,0057 g	0,0845 g
Peso promedio:	2,0354 g	0,0843 g
<b>% Cenizas:</b>		<b>4,14%</b>

**TABLA N° 04**  
**Resultado análisis preliminar de la muestra**

<b>Análisis</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Porcentaje</b>
Humedad	1,0009 g	0,2964 g	29,61%
Cenizas	2,0354 g	0,0843 g	4,14%

#### 4.3.1. Marcha fitoquímica

##### **Procedimiento:**

Para determinar los principales principios activos presentes en la muestra de lima Cambray, "*citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*". Se realizó la marcha fitoquímica preliminar según el método Rondina & Coussio.<sup>19</sup> El diagrama de flujo del proceso se muestra en el Gráfico N° 02

##### **Descripción del proceso:**

Se toma 5 g de muestra secada a 40 °C molido en un molino de cuchillas y tamizada con malla de 200 micras. Se realizaron las pruebas y ensayos en el laboratorio observándose los siguientes resultados:

- a) El extracto metanólico obtenido después de macerado de la muestra durante 20 horas posterior reflujo durante 4 horas era de color verde. Este extracto se filtra, se coloca en una fiola de 50 mL y se completa a volumen con metanol. Se separó 5 mL de este extracto que constituye la **fracción (a)**.
- b) El resto del extracto metanólico (45 mL) se llevó a sequedad en el rotavapor. El residuo sólido se extrajo con 10 mL y 5 mL de HCl al 1% a 50 °C. Las soluciones ácidas se guardan para posterior tratamiento.



El residuo sólido se disuelve con 5 mL de cloroformo (a 50 °C), se agita y se filtra. El filtrado que se seca con sulfato de sodio anhidro constituye la **fracción (b)**

- c) Las soluciones ácidas de la parte (b) se basifica con solución de amoníaco,  $\text{NH}_3$  7,5 N hasta pH 9-10 y luego se extrae con cloroformo (2x25 mL). La parte acuosa se guarda para tratamiento posterior.

La fase clorofórmica se lava con 10 mL agua destilada (reuniéndose las fases acuosas del lavado con la anterior) La fase clorofórmica se seca con sulfato de sodio anhidro y se filtra. Al filtrado constituye la **fracción (c)**.

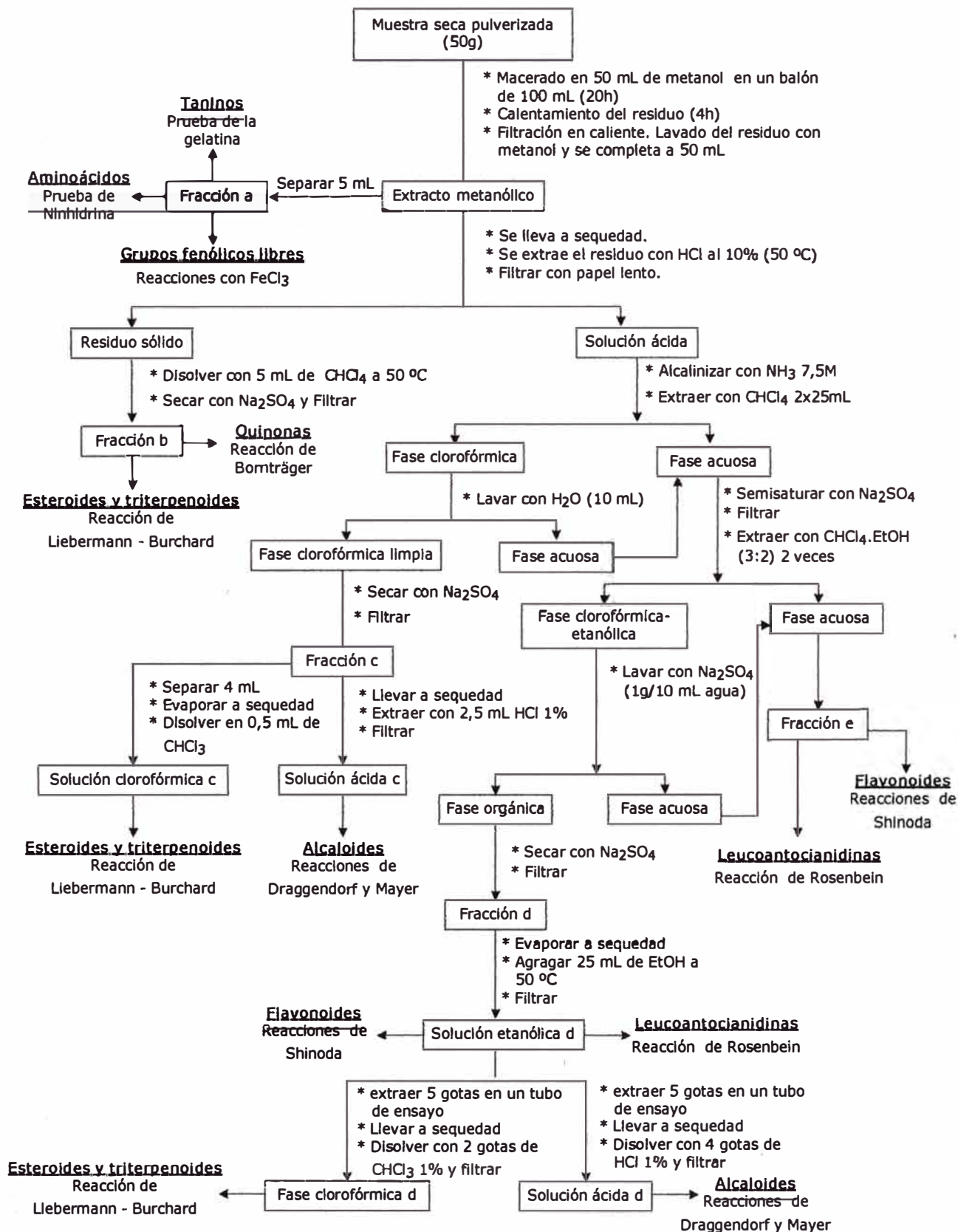
- d) La fase acuosa básica de la sección c) se semisatura con una solución acuosa de sulfato de sodio (0,1 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. Por mL de solución) y se filtra. El filtrado se extrae con cloroformo: etanol (3:2) (2x25 mL). Se guarda la fase acuosa.

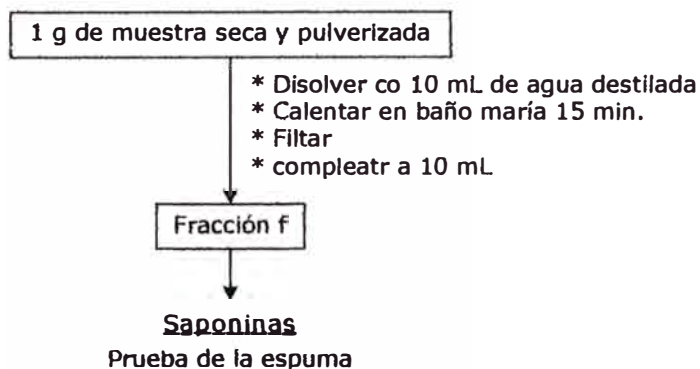
La fase orgánica se lava con solución semisaturada de sulfato de sodio. El lavado acuoso se junta a la fase acuosa anterior. La fase acuosa se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra. Constituye la **fracción (d)**

- e) Las fases acuosas obtenidas en la sección d) constituyen la **fracción (e)**.
- f) En un tubo de ensayo (18x160mm) se pone 1 g de muestra y 10 mL de agua destilada. Se mezcla y se calienta en baño de aceite durante 15 minutos. Se filtra en caliente y se completa a 10 mL. Este extracto constituye la **fracción (f)**.

## GRÁFICO Nº 02

### Diagrama de flujo de la marcha fitoquímica





#### 4.3.2. Pruebas de identificación de metabolitos secundarios.

La preparación de reactivos<sup>23</sup> se describe en el Anexo N° 04.

##### 1) Test de Ninhidrina (aminogrupos primarios o secundarios).

Se realizan sobre las fracciones (a) y (f).

En una placa de vidrio de dispone de tres trozos de papel filtro. En cada una de ellas respectivamente se colocan una gota de muestra: fracción (a), fracción (f) y agua destilada. Se dejan secar a temperatura ambiente. Luego se añaden sobre la parte central de cada papel 1 gota de solución de Ninhidrina al 0,2% en etanol. Los papeles se colocan durante 30 min dentro de una estufa a 110-120 °C.

Se observó en la fracción (a) y fracción (f) presencia de coloración violeta característicos de aminoácidos. Esto indica que prueba resultó positiva para aminoácidos.

##### 2) Test de cloruro férrico (grupos fenólicos libres).

Se realiza sobre la fracción (a).

El resto de la fracción se lleva a sequedad en rotavapor. El residuo se disuelve en 0,5 mL de agua destilada y se filtra.

Se coloca 2 gotas de esta solución (**solución (a)**) filtrada en una luna de reloj y se le añade 1 gota de solución de tricloruro férrico al 1% y se mezcla.

Se observó la coloración verde oscuro lo que indicó reacción positiva por presencia de compuestos fenólicos y / o flavonoides.

### **3) Prueba de la gelatina (presencia de taninos).**

Se realiza sobre la solución (a) obtenida de la fracción (a).

Se colocan 4 gotas de la solución (a) en una luna de reloj y se adiciona dos gotas de solución de gelatina al 0,5 % (se emplea agua destilada como blanco).

Se observó ligera formación de precipitado blanco lo que indica que la prueba es positiva.

### **4) Reacción de Shinoda (presencia de flavonoides).**

Se realizan sobre las fracciones (d) y (e).

La fracción (d) se coloca en un balón y se lleva a sequedad, sobre el residuo se agrega 2,5 mL de etanol para su disolución en baño maría a 50 °C. Luego se filtra. Esta es la **solución (d)**

En un tubo de ensayo se colocan 3 gotas de la solución (d) y en otro tubo de ensayo 2 mL de la fracción (e). A cada uno de los tubos se añaden 2 mL de agua destilada, 1 mL de HCl 12N y limaduras de magnesio. Se agitan y se deja en reposo durante 5 min. Finalmente a cada tubo se agrega 6 gotas de alcohol amílico, se agita, se deja en reposo y se observa la fase amílica.

En la solución (d) apareció una coloración crema y en la fracción (e) una coloración parda lo que indica reacción negativa.

**5) Reacción de Liebermann-Burchard (presencia de triterpenoides y esteroides).**

Se separan 4 mL de la fracción (c) y se llevan hasta sequedad y luego se disuelve con cloroformo (0,2 mL). Esta es la **solución (c)**.

Se colocan 5 gotas de solución (d) en un tubo de ensayo y se lleva a sequedad. El residuo se disuelve en dos gotas de cloroformo. Esta es la **solución (d')**.

En una placa de toque se colocan en posiciones diferentes 2 gotas de la fracción (b), solución (c) y solución (d') respectivamente. Luego se agregan 2 gotas de anhídrido acético sobre ellas y se mezclan bien. Seguidamente se adicionan 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

En la fracción (b) se desarrolló una coloración verde azul indicando reacción positiva. En la solución (c) se formó un anillo crema lo que indica reacción negativa y solución (d') se formó un anillo de coloración naranja indicando reacción positiva.

**6) Reacción de Bornträger (presencia de naftaquinonas y antraquinonas).**

El resto de la fracción (b) se coloca en un tubo de ensayo se agrega 5 mL de hidróxido de sodio al 5% y se agita.

No desarrolla color (es transparente) lo que indica reacción negativa.

**7) Test de Dragendorff y Mayer (alcaloides).**

El resto de la fracción (c) se lleva a sequedad. Luego se extrae a con 2,5 mL de HCl al 1% a 50 °C. Se filtra.

De esta solución se dispone 3 gotas por separado en dos lunas de reloj y se adiciona en cada caso 2 gotas de reactivo de Dragendorff y Mayer respectivamente.

En ambos casos se produjo una suspensión de color blanco indicando ausencia de alcaloides.

Así mismo se dispone de 5 gotas de la solución (d) y se lleva a sequedad. El residuo se disuelve con 4 gotas de HCl al 1% y se filtra. Este filtrado se reparte en dos lunas de reloj y se añaden los reactivos Dragendorff y Mayer respectivamente.

No se forma precipitado alguno lo que indica prueba negativa.

Se realizaron pruebas con el reactivo de Wagner resultando también negativas

**8) Reacción de Rosenbein (presencia de leucoantocianidinas y catequinas).**

En un tubo de ensayo se colocan 3 gotas de la solución (d) y 2 mL de agua destilada. Se adiciona 1 mL de HCl concentrado (12N), se agita y se calienta en baño maría durante 10 min. Se deja enfriar la mezcla.

En otro tubo de ensayo se dispone de 2 mL de la fracción (e) y se le adiciona 1 mL de HCl 12N, se agita y se calienta en baño maría durante 10 min. Se deja enfriar la mezcla.

En cada caso se añade se gotas de alcohol amílico y se agita.

En la solución (d) se desarrolla una coloración crema de la fase amílica indicando reacción negativa. Y en la fracción (e) se desarrolla la coloración marrón en la fase amílica indicando reacción positiva para catequinas.

**9) Test de la espuma (presencia de saponinas).**

Se coloca 1 mL de la fracción (f) en un tubo de ensayo, se agita durante 15 segundos. Luego se deja en reposo durante 15 min. Después del cual se mide la altura de la espuma.

La espuma desapareció antes de los 7 min. Indicando ausencia de saponinas.

**4.3.3. Test para aceites esenciales.**

Se toma 5,0 gramos de muestra fresca en un erlenmeyer que contiene 20 mL de agua destilada y se hace hervir 5 min. Se deja enfriar. La presencia de gotas aceitosas en la superficie del agua indica que la prueba es positiva.

**TABLA Nº 05**

**Resultados de la marcha fitoquímica preliminar**

Nº	Clase de Producto Natural	Prueba de Coloración o Precipitación	Frac-clón	Resultados	Observaciones
1	Aminoácidos Primarios o Secundarios	Ninhidrina	a	++	Color Lila
			f	+++	Color Lila oscuro
2	Grupos fenólicos libres	Cloruro férrico	a	+	Color verde oscuro
3	Taninos	Gelatina	a	+	Ligero ppdo.
4	Flavonoides, excepto chalconas, auronas catequinas e isoflavononas	Reactivo de Shinoda	d	-	Color crema
			e	-	Color pardo
5	Triterpenoides y/o esteroides	Reacción de Liebermann Burchard	b	+	Color verde-azul
			c	-	Anillo crema
			d	+	Anillo naranja
6	Quinonas, antranas o antranoles	Reacción de Borntrager	b	-	transparente
7	Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	c	-	Ppdo. blanco
			d	-	Ppdo. blanco
		Reactivo de Mayer	c	-	No hay ppdo.
			d	-	No hay cambios
		Reactivo de Wagner	c	-	No hay cambios
			d	-	No hay cambios
8	Leucoantocianidinas (rojo), Catequinas (marrón)	Reacción de Rosenheim	d	-	Color crema
			e	+	Color marrón
9	Saponinas	Prueba de espuma	f	-	Desapareció la espuma
10	Test de Aceites esenciales			+	Presencia de gotas aceitosas



#### 4.4. Extracción del aceite esencial.

El aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) *Swingle*, se extrajo utilizando las cáscaras frescas cortadas en tiras mediante el método de extracción por arrastre por vapor de agua empleando el equipo que se encuentra en el laboratorio N° 12 de la Facultad de Ciencias – UNI.

##### 4.4.1. Características del equipo.

Es equipo de extracción por arrastre de vapor esta construido íntegramente con acero inoxidable y consta de tres cuerpos:

- a) Cámara generadora de vapor de agua:  
Capacidad total: 33,5 litros  
Capacidad de operación: 10 litros de agua  
Diámetro: 25 cm  
Altura: 69 cm
  
- b) Cámara de extracción:  
Capacidad: 15 litros  
Capacidad de carga: Según material orgánico  
Diámetro interno: 20 cm  
Altura: 48 cm
  
- c) Refrigerante:  
De forma recta, 5 cm de diámetro externo por 60 cm de longitud, 1,5 cm de diámetro interno.
  
- d) Accesorios:  
Tapa con empaquetadura de jebe y tornillos  
Parrilla  
Soporte del refrigerante  
Probeta florentino de 100 mL

#### **4.4.2. Extracción.**

Se monta el equipo extractor (Fotografía en el Anexo N° 12)

Se coloca 10 litros de agua en la cámara generadora de vapor.

En la cámara de extracción se coloca aproximadamente 2 Kg. de cáscaras frescas de lima cortadas en tiras.

Se acopla la cámara de extracción al de generación de vapor y a este el refrigerante, se pone a circular el agua en el refrigerante y se suministra energía eléctrica.

En el extremo inferior del refrigerante colocamos una probeta florentino lleno con agua destilada (Anexo N° 12), en ella se colectará el aceite esencial. Debajo del vástago de la probeta florentino se pone un vaso de precipitados para colectar los residuales de destilación (agua).

La destilación se detiene cuando se han colectado dos litros de agua.

#### **Tratamiento previo del aceite.**

El destilado contenido en la probeta florentino se coloca en el embudo de separación y se deja reposar durante 30 min. Para lograr una buena separación de fases.

Las fases acuosas se desechan y el extracto orgánico se colecta en un matraz erlenmeyer de 50 mL, se agrega entonces la cantidad necesaria de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente. Se decanta el extracto seco y se coloca en un recipiente de vidrio oscuro con tapa hermética.

<b>Primera extracción:</b>	<b>Por carga</b>	<b>Total</b>
Tiempo de Extracción	1:30 horas	3 horas
Volumen de destilado acuoso	2 litros	4 litros
Material tratado (cáscaras frescas)	1ra carga: 1,7 Kg. 2da carga: 1,6 Kg.	3,3 Kg.
Peso de Aceite (bruto)	-----	11,952 g

Cálculo del rendimiento de extracción:

Peso de Aceite (bruto)	11,952 g
Peso de Aceite (seco)	11,724 g
Peso de cáscaras	3300 g
Rendimiento	0,355%

<b>Segunda extracción:</b>	<b>Por carga</b>	<b>Total</b>
Tiempo de Extracción	1:00 horas	2 horas
Volumen de destilado acuoso	1 litros	2 litros
Material tratado (cáscaras frescas)	1ra carga: 3,2 Kg. 2da carga: 3,0 Kg.	6,2 Kg.
Peso de Aceite (bruto)	-----	27,6544 g

Cálculo del rendimiento de extracción:

Peso de Aceite (bruto)	27,6544 g
Peso de Aceite (seco)	27,3244 g
Peso de cáscaras	6200 g
Rendimiento	0,446%

<b>Tercera extracción:</b>	<b>Por carga</b>	<b>Total</b>
Tiempo de Extracción	1:00 hora	2 horas
Volumen de destilado acuoso	1 litros	2 litros
Material tratado (cáscaras frescas)	1ra carga: 3,1 Kg. 2da carga: 2,9 Kg.	6,0 Kg.
Peso de Aceite (bruto)	-----	27,5442 g

Cálculo del rendimiento de extracción:

Peso de Aceite (bruto)	27,5442 g
Peso de Aceite (seco)	27,3251 g
Peso de cáscaras	6000 g
Rendimiento	0,454%

**TABLA N° 06**  
**Promedio del rendimiento**

<b>N° extracción</b>	<b>Porcentaje de aceite esencial</b>
Primera	0,355 %
Segunda	0,446 %
Tercera	0,454 %
Promedio	<b>0,418 %</b>

**4.5. Separación de Componentes del Aceite Esencial de Lima Cambray, *citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.***

**Condiciones experimentales:**

Para las pruebas preliminares de cromatografía de capa fina:

Placas : Cromatofolios Merck

Soporte : Sílica gel 60 GF 254-366

Dimensión: 100x10x0,2 mm

Eluyentes : n-hexano, diclorometano, metanol.

Revelador: ácido sulfúrico al 25%

Para Cromatografía de Columna:

Soporte : Sílica gel 60 GF254

Dimensión : 400 x 30 mm

Eluyentes : Diclorometano, metanol

#### 4.5.1. Pruebas preliminares de cromatografía de capa fina.

##### Material y reactivos


04 cromatofolios de aluminio con sílica gel y fluoresceína de dimensiones: 1,5 x 4,5 cm


04 vasos de precipitados de 20 mL


04 lunas de reloj pequeños


01 capilar.

Cloruro de metileno, n-hexano, metanol, ácido sulfúrico al 25 %

Placa Nº 1	Revelado
	Rf <sub>1</sub> : 0,75 Rf <sub>2</sub> : 0,4
Solvente: n-hexano	

Placa Nº 2	Revelado
	Rf <sub>1</sub> : 0,675 Rf <sub>2</sub> : 0,775
Solvente: Diclorometano	

Placa N° 3	Revelado:
	<p data-bbox="975 443 1093 477"><math>R_{f1}: 0,7</math></p> <p data-bbox="975 566 1093 600"><math>R_{f2}: 0,8</math></p>
<p data-bbox="427 719 598 752">Solventes:</p> <p data-bbox="427 775 949 808">Diclorometano / n-hexano (4:1)</p>	

Placa N° 4	Revelado:
	<p data-bbox="983 1211 1101 1245"><math>R_{f1}: 0,1</math></p>
<p data-bbox="437 1431 608 1464">Solventes:</p> <p data-bbox="437 1487 949 1520">n-hexano / diclorometano (4:1)</p>	

Comparando los cromatogramas, se opta por utilizar el diclorometano como eluyente para realizar la cromatografía de columna debido a que con este solvente se logra mejor separación de los componentes del aceite esencial de lima: Placa N° 2 y placa N° 3

#### 4.5.2. Cromatografía de Columna.

Se prepara una suspensión de 50 gramos de alúmina en 100 mL de diclorometano y se introduce en la columna cromatográfica (Anexo N° 12).

Se deja en reposo y luego se escurre todo el diclorometano en exceso.

A la columna se le añade 3 mL de aceite esencial. Y por la parte inferior se le escurre casi todo el solvente.

Se percolan recogiendo en porciones de 10 mL utilizando los siguientes eluyentes:

Diclorometano.....	80 mL
Diclorometano.....	80 mL
Diclorometano.....	90 mL
Diclorometano / metanol.....	99 mL / 1 mL
Diclorometano / metanol.....	95 mL / 5 mL
Diclorometano / metanol.....	90 mL / 10 mL

Se recogieron 45 porciones de 10 mL cada una.

## V. CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL Y SUS COMPONENTES.

### 5.1. Propiedades del Aceite Esencial de Lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle.

#### 5.1.1. Características organolépticas del aceite esencial.

- Líquido fluido transparente
- Ligeramente amarillento verdoso
- Aromático muy fuerte (cítrico incisivo)

#### 5.1.2. Determinación de las constantes físicas del aceite esencial.

##### a) Solubilidad.

El aceite esencial extraído es insoluble en agua y metanol, ligeramente soluble en etanol y soluble en solventes apolares.

TABLA N° 07

#### Pruebas de solubilidad del aceite esencial de lima en diferentes solventes

Solvente	Soluble	Poco Soluble	Insoluble
Agua	-----	-----	✓
Metanol	-----	-----	✓
Etanol	-----	✓	-----
Acetato de Etilo	✓	-----	-----
Cloroformo	✓	-----	-----
Benceno	✓	-----	-----
n-Hexano	✓	-----	-----
Éter	✓	-----	-----
Dicloroetano	✓	-----	-----



**b) Determinación de la gravedad específica por el método del picnómetro.<sup>1</sup>**

**A) Aparato:**

Baño de agua a temperatura constante.

Picnómetro de 10 mL.

**B) Calibración:**

Se llena completamente el picnómetro limpio con agua recientemente destilada, se tapa y se pone en inmersión en un baño de agua a temperatura constante con el nivel del baño por encima de la marca de graduación del picnómetro.

Después de 30 min, se destapa y con un tubo capilar ajustamos la cantidad de agua hasta que la parte bajo el menisco esté tangente a la marca de graduación. Con un rollo pequeño de papel filtro se seca por dentro del cuello del picnómetro, luego tapamos y se sumerge nuevamente en el agua de baño a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Sacamos el picnómetro, secamos y se deja reposar durante 15 minutos y luego se pesó.

Descartamos el agua del picnómetro, enjuagamos con acetona y se seca completamente. Se Deja que el picnómetro tome la temperatura ambiente, se tapa y se pesa.

**C) Determinación del peso de aceite esencial.**

Se llenó completamente el picnómetro limpio con aceite esencial, se tapó y se puso en inmersión en un baño de agua a temperatura constante con el nivel del baño por encima de la marca de graduación del picnómetro.

Después de 30 min, se destapó y con un tubo capilar se ajusta la cantidad de aceite esencial hasta que la parte bajo el menisco esté tangente a la marca de graduación. Con un rollo pequeño de papel filtro se seca por dentro del cuello del picnómetro, se tapa y sumergió en el agua de baño a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se saca el picnómetro, se secó, se dejó reposar durante 15 minutos y luego se pesó.

Peso picnómetro con agua : 28,4452 g

Peso picnómetro vacío : 18,5863 g

Peso de agua (26°C) : 9,8589 g

Peso picnómetro con aceite : 26,9349 g

Peso picnómetro vacío : 18,5862 g

Peso de aceite (26°C) : 8,3487 g

D) Cálculo de la Gravedad Específica aceite esencial (26 °C)

$$G.E. = \frac{\text{peso aceite}}{\text{peso agua}} = \frac{8,3487 \text{ g}}{9,8589 \text{ g}} = 0,8468$$

Corrección de la gravedad específica a 20°C (d'):

$$\begin{aligned} d' &= d + (t-t').0,00068 \\ &= 0,8468 + (26-20).0,00068 = 0,85088 \end{aligned}$$

c) **Determinación de la rotación óptica.**

Se determina la rotación óptica utilizando un polarímetro PolyScience Modelo SR-6 de Steeg & Reuter y celda polarográfica de 200 mm.

**Procedimiento:**

Se llena la celda polarográfica con aceite esencial y se mide el ángulo límite correspondiente al prisma utilizado, se obtiene los valores usando la línea "D" de sodio a 18 °C.

Temperatura	Línea espectral	Rotación ( $\alpha$ )
18 °C	Línea D del sodio	+133,3°

**d) Determinación del índice de refracción.**

Se determinó el índice de refracción utilizando un refractómetro de abbé PZO Warszawa RL1 N° 5653

Temperatura: 18 °C.

**Procedimiento:**

Se coloca unas gotas de aceite esencial en el prisma inferior del refractómetro y se mide el índice de refracción en escala de la línea D del sodio.

Temperatura	Línea espectral	Índice de refracción(n)	Muestra
18 °C	Línea D del sodio	1,4705	1ra extracción
18 °C	Línea D del sodio	1,4679	2da extracción
18 °C	Línea D del sodio	1,4682	3ra extracción

**e) Determinación de sólidos totales.**

La determinación del residuo de evaporación se lleva a cabo mediante el método descrito en la norma ISO 4.715 de 1978, para aceites esenciales. El residuo de evaporación es el porcentaje de masa que se obtiene tras la eliminación de la fracción volátil por calentamiento de la muestra al baño maría y posterior enfriamiento en un desecador. El resultado se expresa como porcentaje de masa del residuo respecto de la masa inicial.

Se pesa exactamente 5 mL de muestra en un crisol de porcelana tarada.

Se evapora a sequedad sobre baño de vapor de agua.

Se deja secar a 100 °C durante 30 min.

Se deja enfriar en un desecador durante 15 minutos.

Luego se pesó.

Peso de aceite esencial	:	4,2341 g
Peso crisol vacío	:	24,8435 g
Peso crisol con residuo	:	24,9346 g
Peso de residuo:		0,0911 g
<b>Porcentaje de sólidos totales</b>	<b>:</b>	<b>2,15%</b>

**f) Determinación de cenizas totales.**

Utilizando los residuos totales encontrados en la determinación anterior.

Se lleva a ignición en una mufla a 600 °C durante 3 horas.

Se enfría en un desecador durante 30 min y luego se pesa.

Peso de crisol más cenizas	:	24,8435 g
Peso de crisol vacío	:	24,8435 g
Peso de cenizas	:	0,0 g
<b>Porcentaje de cenizas totales</b>	<b>:</b>	<b>0,0 %</b>

**g) Determinación de Punto de Congelación.**

Se colocó 5 mL de aceite esencial de lima en un tubo de ensayo (130x10 mm) y se introdujo un termómetro en el tubo y se puso en un baño de hielo picado y sal.

El aceite empezó a cristalizar a -13,5 °C

**h) Determinación de punto de ebullición.**

Se colocó 5 mL de aceite esencial de lima en un tubo de ensayo (130x10 mm) y se introdujo un termómetro en el tubo y se puso en un baño de aceite.

El aceite ebulló entre 175 °C – 202 °C

**i) Índice de acidez.**

A 1,0723 g de muestra se le agrega 5 mL de etanol y 5 gotas de fenolftaleína, se le tituló con una solución etanólica de hidróxido de potasio 0,1018 N empleando un blanco.

$$\text{Índice de acidez} = 1,71 \text{ mg KOH/g.}$$

El I.A. indica el número de miligramos de KOH necesario para neutralizar los ácidos libres contenidos en un gramo de aceite esencial.

**j) Índice de éster.**

A 2,0 g de muestra se le agregó 25 mL de solución etanólica de hidróxido de potasio 0,509 N y se le refluyó por 45 min. Se enfrió y se le agregó 20 mL de agua destilada y 5 gotas de fenolftaleína. Se le tituló con HCl 0,502 N paralelo a un blanco.

$$\text{Índice de éster} = 78,26 \text{ mg KOH/g.}$$

El I.E. indica el número de miligramos de KOH necesario para neutralizar los ácidos liberados por los ésteres contenidos en un gramo de aceite esencial.

**k) Índice de saponificación.**

En un balón de 125 mL con condensador de reflujo se agregó un gramo de aceite, 25 mL de alcohol isopropílico y 25 mL de KOH

1,016 N (solución alcohólica). Se sometió a reflujo 2 h y se enfrió y luego se agregó 2 gotas de fenolftaleína. El exceso de base se tituló con HCl 0,2479N.

Índice de saponificación = 226,4 mg KOH/g.

El I.S. indica el número de miligramos de KOH necesario para saponificar un gramo de aceite esencial.

**TABLA Nº 08**

**Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de lima Cambray.**

Propiedad	Valor	Observación
Gravedad específica	0,85088	20 °C
Rotación óptica ( $\alpha$ )	+133,3°	18 °C, línea D del sodio
Índice de refracción(n)	1,4679 - 1,4705	18 °C, línea D del sodio
Porcentaje de sólidos totales	2,15 %	
Porcentaje de cenizas totales	0,0%	
Punto de congelación	< -13,5 °C	
Punto de ebullición	175 °C – 202 °C	
Índice de acidez	1,71 mg KOH/g	
Índice de éster	78,26 mg KOH/g	
Índice de saponificación	226,4 mg KOH/g	

**5.1.3. Reacciones característica de coloración en el aceite esencial.**

Se han realizado reacciones de coloración en el aceite esencial para obtener información sobre los grupos funcionales presentes en la constitución de las sustancias que conforman el aceite esencial de lima cambray. (Preparación de reactivos<sup>23</sup> en el Anexo Nº 04.

### **1) Alcoholes.**

Se colocó en un tubo de ensayo 0,1g de KOH y 0,5 mL de aceite esencial y se calentó hasta disolución, luego se enfrió el tubo al tiempo que el contenido se obtuvo consistencia resinosa, seguidamente se añadió 1 mL de éter etílico se agitó hasta la disolución total y luego se agregó 0,5 mL de disulfuro de carbono. Se formó un precipitado ligero de color amarillo indicando reacción positiva.

### **2) Aldehídos.**

Se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de reactivo de Schiff y luego se agregó 3 gotas de aceite esencial. La formación de una coloración rojo azulada indica reacción positiva para el grupo funcional aldehído.

### **3) Presencia de insaturaciones.**

Se colocó en un tubo de ensayo 0,2 mL de aceite esencial y 2 mL de tetracloruro de carbono, luego se añadió gota a gota una solución de permanganato de potasio al 5%. Se agitó suavemente. La decoloración instantánea indica insaturaciones presentes.

### **4) Anillos Aromáticos.**

Se colocó en un tubo de ensayo 0,5 mL de aceite esencial y 1 mL de  $\text{CCl}_4$  se tomó 4 gotas de esta solución y se colocó en un tubo que contenía 1mL de reactivo ácido sulfúrico – formaldehído. Se formó la coloración rojo sangre, lo que indica reacción positiva.

### **5) Compuestos Fenólicos.**

Se colocó en un tubo de ensayo 0,5 mL de aceite esencial, 1 mL de etanol u una gota de cloruro férrico al 1% no se observó cambio de color lo que indica reacción negativa.

## 6) Reacción con el reactivo de Tollens.

Se colocó en un tubo de ensayo 0,5 mL de aceite esencial, se añadió tres gotas de reactivo de Tollens recientemente preparado y se dejó en reposo. Se observó la formación de un anillo de espejo de plata.

TABLA Nº 09

### Resultados de las reacciones de coloración.

Ensayo	Resultado	Característica	Producto
Alcoholes	(+)	Ligero precipitado amarillo	R-O-CS-SH
Aldehído y cetona	(+)	Ligero precipitado naranja	R-NH-N=CH <sub>2</sub>
Insaturados	(+)	Decoloración instantánea	-CH(OH)-CH(OH)- + MnO <sub>2</sub>
Anillos aromáticos	(+)	Color rojo sangre	Ar-CH <sub>2</sub> <sup>+</sup>
Compuesto fenólico	(-)	amarillo	Ninguno
Prueba de Tollens	(+)	Espejo de plata	R-COO <sup>-</sup> + Ag + NH <sub>3</sub>

## 5.2. Espectroscopia del Aceite Esencial.

### 5.2.1. Determinación del espectro IR del aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*.

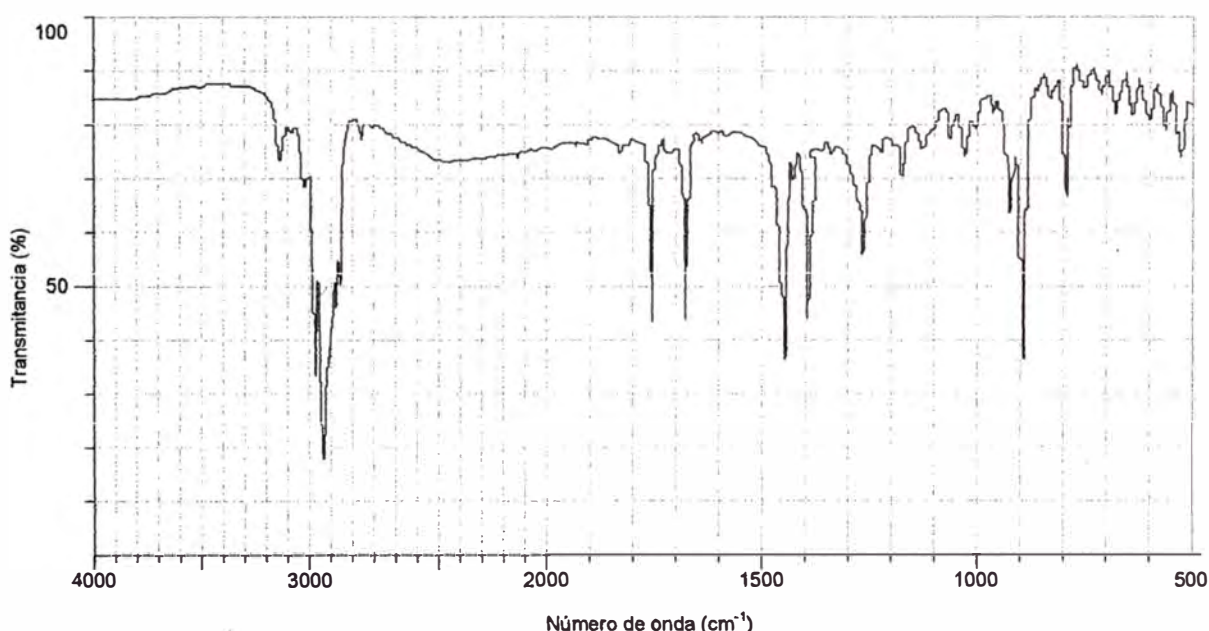
Se obtuvo el espectro IR en un espectrofotómetro infrarrojo FTIR - 8300 Shimadzu.



Se midió con precisión 0,1 mL de aceite esencial de lima y se pone en una fiola de 10 ml y luego se diluye a volumen con n-hexano. Se toma 0,1 mL de esta dilución en otra fiola de 10 mL y se lleva a volumen con n-hexano obteniéndose una disolución al 0,01% en volumen.

Se tomó una alícuota de la última solución y se le inyecta en la cubeta con placa de KBr. Se obtuvo el siguiente espectro.

**GRÁFICO Nº 03**  
**Espectro IR del aceite esencial de lima Cambray**  
***citrus aurantifolia (Christm.) Swingle***



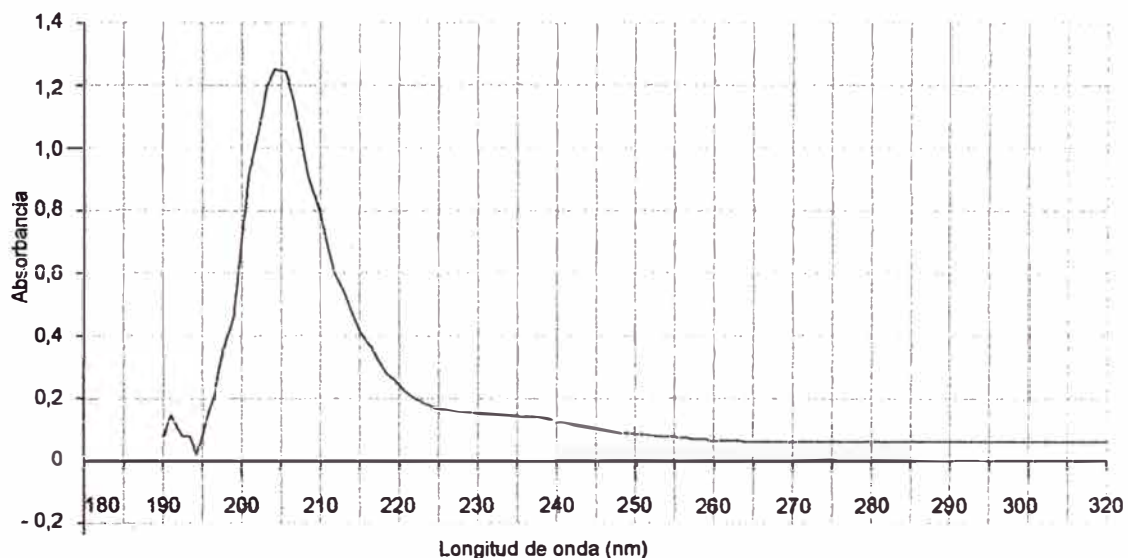
### 5.2.2. Determinación del espectro UV del aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia (Cristm.) Swingle*.

Se obtuvo el espectro UV en un espectrofotómetro Lambda 10-Perkin Elmer.

Se midió con precisión 0,1 mL de aceite esencial de lima y se prepara una dilución al 0,04% en volumen utilizando n-hexano como solvente. Y se determina la absorbancia de la dilución preparada en la región de UV desde 190 hasta 350 nm. Se obtuvo el siguiente espectro:

## GRÁFICO N° 04

### Espectro UV del aceite esencial de lima Cambray *citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*



En el espectro se observa que el aceite esencial de lima presenta un máximo de absorción a una longitud de onda igual a 205 nm

#### 5.2.3. Cromatografía gaseosa y cromatografía de gases acoplada a masas del aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*.

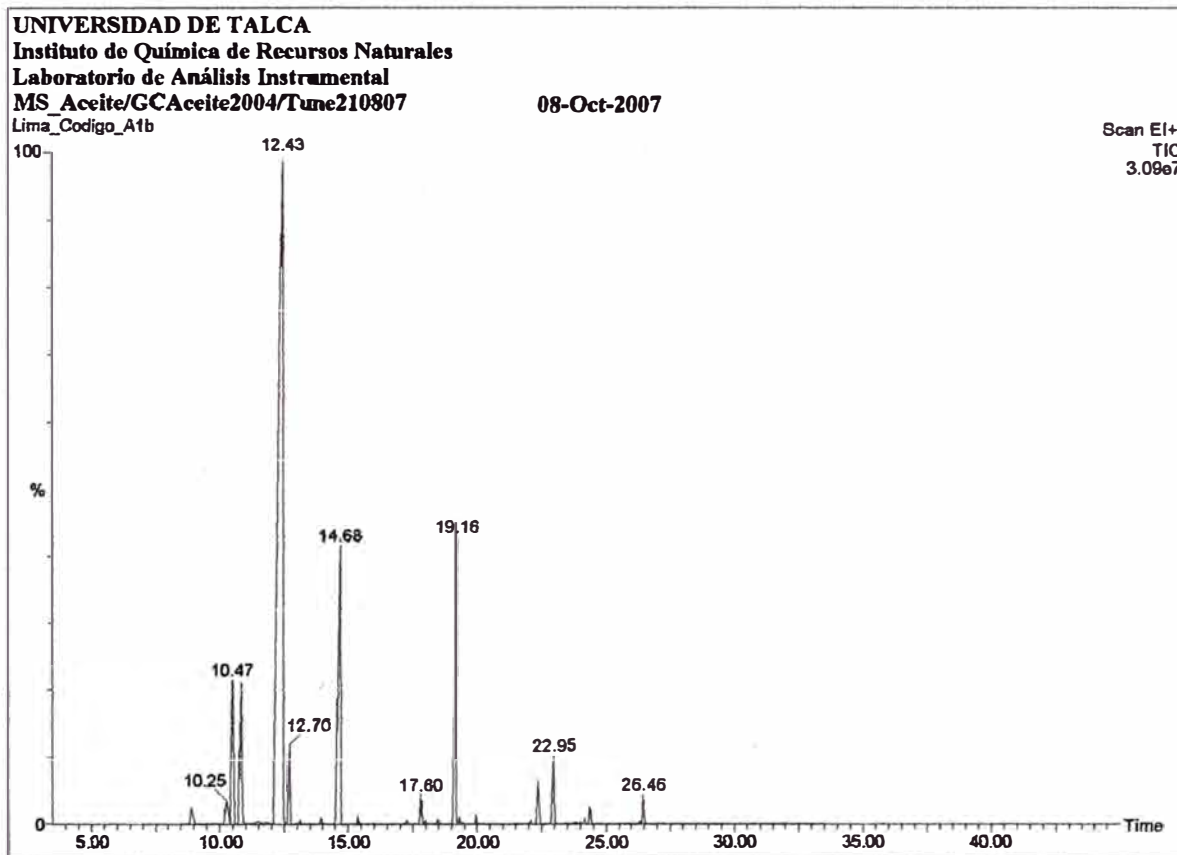
Los espectros de gases y masas se desarrollaron en el Instituto de Química de Recursos Naturales de la Universidad de Talca - Chile.

##### a) En cromatografía gaseosa (CG).

Se utilizó un cromatógrafo gaseoso marca SHIMADZU MODELO GC-17A, con detector FID y una columna capilar no polar de metilsilicona DB-1 (J&W Scientific) de 60 m por 0,25 mm y 0,25  $\mu$ m de espesor de film. Se usó el siguiente programa de temperatura: 60°C (5 min), 60-220°C (3°C/min) y 220°C (22 min), como gas portador se utilizó nitrógeno (0,9 ml/min); temperatura del inyector: 230°C; temperatura del detector: 250°C.

Se obtuvo el siguiente espectro:

**GRÁFICO N° 05**  
**Cromatograma de gases del aceite esencial de lima Cambray**  
*citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*



En este cromatograma se muestran un mínimo de 30 picos de los cuales se reportan la identificación de 10 compuestos que se nombran en la Tabla N° 10. Para el cálculo de porcentajes e identificación de picos se emplean los espectros del Anexo N° 08.

**b) En cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (CG/EM).**

Los espectros obtuvieron en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Autosystem con espectrómetro de masas tipo cuadrupolo Q. Mass 910. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida de 30 m por 0,32 mm, marca Supelco SPB-1. La temperatura de columna se programó a 60°C (5 min), 60-220°C (3°C/min) y 220°C (8 min), se

utilizó como gas portador helio (1 ml/min); temperatura del inyector y detector: 250°C. Startig mass 45, voltaje de ionización 70eV.

Los espectros de masas de los componentes identificados mediante cromatografía de gases acoplada a masas se muestran en el Anexo N° 07.

**TABLA N° 10**  
**Principales componentes del aceite esencial de lima Cambray**  
*citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*



N°	TR	COMPUESTOS	PM	FÓRMULA	% ÁREA
1	10,251	4-metilen-1-(1-metiletil) biciclo[3,1,0]hexano ( $\alpha$ -Tuyeno)	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0,78
2	10,484	$\beta$ -Pinenos	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5,07
3	10,784	$\beta$ -Mirceno	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5,07
4	12,143	Limoneno	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	60,24
5	12,701	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (Cis- $\beta$ -Ocimeno)	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1,40
6	14,651	Acetato de 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ilo (Acetato de linalilo)	196	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	13,39
7	17,793	(+)- $\alpha$ -terpineol	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0,60
8	19,127	Acetato de 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ilo (Acetato de linalilo)	196	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	9,56
9	24,352	3,7,11-trimetil-1,3,6,10-dodecatetraeno (Cis- $\beta$ -Farneseno)	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0,50
10	26,460	5-(2,2-dimetilciclopropil)-2-metil-4-metenil-1-penteno	164	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>	0,50

### 5.3. Estudio cromatográfico y espectroscópico de las fracciones eluidas por cromatografía de columna.

#### 5.3.1. Cromatogramas de los compuestos "X1" y "X2".

Se Realizó el desarrollo de cromatofolios de las 45 fracciones de eluidos que se han obtenido en cromatografía de columna utilizando diclorometano como eluyente, después del revelado respectivo juntamos las fracciones del 4, 5, 6 porque indicaban la presencia de un componte puro que agrupados constituirán el compuesto "X1". También agrupamos las fracciones 14 y 15 que constituirán el compuesto "X2". La fracción 24 también presentaba una mancha notable al mismo Rf que las fracciones 14 y 15. Los demás cromatogramas solo desarrollaron pequeñas manchas aisladas y dispersas, y otras quedaron blancas.

Las fracciones agrupadas se llevaron a evaporación a medio ambiente para eliminar el solvente y luego se disolvió con n-hexano.

Compuesto "X1"	Compuesto "X2"
	
Solventes: diclorometano Revelado: ácido sulfúrico 25% Rf: 0,68	Solventes: diclorometano Revelado: ácido sulfúrico 25% Rf: 0,86

### 5.3.2. Estudio espectral de los compuestos "X1" y "X2".

a) **Espectroscopia IR:** Se corren los respectivos espectros IR para los compuestos "X1" y "X2". Ver los espectros correspondientes en el Anexo N° 05.

Se obtuvo los siguientes picos notables:

**TABLA N° 11**  
**Bandas de absorciones IR del compuesto "X1".**

Pico	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo atómico	Función química
1	3015	=CH (t)	(alqueno)
2	2968 / 2930 / 2872 /	C-H (t)	(alcano)
3	1662 / 1645 / 1615	C=C t (aislados)	(alqueno)
4	1460	CH <sub>2</sub> (d)	(alcano)
5	1440 / 1380 / 1332 / 1315 / 1285	C-H d (plano)	(alqueno)
6	1380	CH <sub>3</sub> (d)	(alcano)

**TABLA N° 12**  
**Bandas de absorciones IR del compuesto "X2".**

Pico	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo atómico	Función química
1	3040	=CH (t)	(alqueno)
2	2940/2860	C-H t	(alcano)
3	1740	C=O t	(éster)
4	1680	C=C t (aislados)	(alqueno)
5	1417/1295	C-H d (plano)	(alqueno)
6		C-C(O)-C t	éster
7	985/940	C-H d	(alqueno)
8	725	CH <sub>2</sub> d	(alcano)

**b) Espectroscopia UV:** Se obtuvieron los respectivos espectros UV para los compuestos "X1" y "X2". Los espectros se muestran en el Anexo N° 06.

En el espectro UV del compuesto "X1" se observa un máximo de absorción a la longitud de onda de 260 nm y en el espectro del compuesto "X2" a una longitud de onda de 253 nm.

**c) Cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas:**

Con las fracciones de los compuestos "X1" y "X2" eluidos se ha llevado a un análisis espectrométrico de CG/EM. Obteniéndose los espectros que se muestran en el Anexo N° 09.

De acuerdo a estos espectros se tiene:

	<b>Compuesto "X1"</b>	<b>Compuesto "X2"</b>
<b>Nombre</b>	Limoneno	Acetato de Linallo
<b>Fórmula Molecular</b>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
<b>Peso molecular</b>	136	196

**d) Resonancia Magnética Nuclear del Compuesto "X1".**

Se obtuvieron los espectrogramas correspondientes a Resonancia Magnética Nuclear Protónica y de carbono 13 para el compuesto identificado como "X1". Ver espectros en el Anexo N° 10.

Del estudio de estos espectros se han obtenido los desplazamientos químicos característicos cuyos resultados se encuentran tabulados en las Tablas N° 14 y N° 15.

**TABLA Nº 13**

**Desplazamiento químico de RMN-<sup>1</sup>H compuesto "X1".**

**RMN-1H: (CDCl<sub>3</sub>, δ, 300 MHz)**

<b>δ, (ppm)</b>	<b>Característica</b>	<b>Cantidad de hidrógenos</b>	<b>Identificación del Hidrógeno</b>
5,39	m	1H	H-2
4,70	s	2H	H-9
2,2	m	6H	H-3, H-5 y H-6
1,73	s	3H	H-7
1,64	s	3H	H-10
1,4	m	1H	H-4

**TABLA Nº 14**

**Desplazamiento químico de RMN-<sup>13</sup>C compuesto "X1".**

**RMN-13C: (CDCl<sub>3</sub>, δ, 75 MHz)**

<b>δ, (ppm)</b>	<b>Multiplicidad</b>	<b>Identificación del Carbono</b>
149,6	s	C-8
133,1	s	C-1
120,8	d	C-2
108,4	t	C-9
41,2	d	C-4
30,8	t	C-6
30,6	d	C-3
28,0	t	C-5
23,7	q	C-7
20,5	t	C-10



## **VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.**

### **6.1. De la Muestra.**

De acuerdo al análisis preliminar en la marcha fitoquímica cuyos resultados se dan en la Tabla N° 05. La muestra contiene apreciables cantidades de aminoácidos, grupos fenólicos libres, taninos, triterpenoides y catequinas, así mismo se ha encontrado apreciable cantidad de aceite esencial en la muestra fresca y sustancias resinosas.

### **6.2. De la Extracción del Aceite Esencial.**

Se accedió a utilizar la técnica de extracción por arrastre de vapor por ser el más versátil, simple y flexible para extraer aceites de cítricos y que permite trabajar volúmenes grandes de materia sin tratamiento previo además, se obtiene un aceite que no necesita operaciones posteriores de purificación, aunque se corre el riesgo de provocar degradación térmica como oxidación, hidrólisis, etc.

El rendimiento obtenido fue en promedio del 0,418 % respecto al peso de las cáscaras frescas (Tabla N° 06).

En el estudio bibliográfico no se reportan rendimientos para extracción de aceite esencial de alguna variedad de lima por el método de arrastre de vapor. Pero indican para otros tipos de cítricos rendimientos variables desde 0,2% hasta un 6% dependiendo de la técnica empleada. <sup>1, 2</sup>

### 6.3. De las Propiedades Fisicoquímicas del Aceite Esencial.

M.C. Colacio Juárez<sup>6</sup> y colaboradores que caracterizaron el aceite esencial de lima dulce (*Citrus limetta*) para diferentes estados de maduración extrajeron el aceite esencial mediante el método de arrastre con vapor de agua y reportan los siguientes valores para:

Índice de refracción	1,47
Densidad relativa	0,847 a 0,886
Residuo de evaporación	1,53 %

El aceite esencial de lima Cambray, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, que se obtuvo presenta los siguientes valores para las mismas características fisicoquímicas: (ver Tabla N° 08)

Índice de refracción	1,4679 - 1,4705
Densidad relativa	0,85088
Residuo de evaporación	2,15 %

Los valores internacionales<sup>6</sup> permitidos para su comercialización son:

Índice de refracción	1,4745 - 1,477
Densidad relativa	0,855 - 0,863
Residuo de evaporación	0,2 - 2,2%

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los parámetros internacionales establecidos para su comercialización.

### 6.4. De las Reacciones Características de Coloración del Aceite Esencial.

Los resultados de las reacciones características de coloración (ver Tabla N° 09), indican que el aceite esencial obtenido está compuesto por sustancias que presentan los siguientes grupos funcionales:

alcohol, aldehído, carbonilo, insaturaciones (dobles enlaces por ejemplo) y anillos aromáticos pero no compuestos fenólicos.

## 6.5. De la Espectroscopia del Aceite Esencial de Lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle

### 6.5.1. De la espectroscopia IR.

En el espectro IR del aceite esencial (Gráfico N° 03) se muestran bandas de absorción típicas a los grupos atómicos que se muestran en la siguiente tabla:

**TABLA N° 15**  
**Grupos funcionales presentes en el aceite de lima Cambray**  
***citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle**

Pico	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo atómico	Función Química
1	3156	- OH	alcohol
2	3040	=CH (t)	alquenos
3	2992	C-H (t)	aromáticos
4	2952 / 2876 / 2782	C-H (t)	alcanos
5	2876 / 2782	C-H (t)	aldehído
6	1730	C=O (t)	éster
7	1654	C=C (t) (aislado )	alquenos
8	1430	C-H (d)	alquenos
9	1376	CH <sub>3</sub> (d)	alcanos
10	1253	C-(CO)-C (t)	acetatos
11	1160	C-(CO)-C (t)	éster
12	1118	C-C (t)	cetonas
13	1019/1118/1160/1253	C-O (t)	alcoholes
14	918	C-H (d) (monosustituido)	alquenos
15	883	C-H (d) (disustituido)	alquenos
16	772 / 735	C-H	aromáticos

El pico en  $3156\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia del grupo OH pero la banda no muy ancha sobre los  $3000\text{ cm}^{-1}$  indica que el aceite no presenta ácidos carboxílicos, esto significa que el grupo OH pertenece a la función alcohol. El pico en  $1730\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia del grupo carbonilo perteneciente a aldehído o éster o cetonas. El pico sobre los  $3040\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia de insaturaciones  $sp^2$  y las débiles bandas sobre los  $772\text{ cm}^{-1}$  -  $735\text{ cm}^{-1}$  indican la presencia de anillos aromáticos.

Por lo tanto el aceite esencial extraído está constituido por compuestos que contienen grupos funcionales alqueno, alcohol, aldehído, cetona, éster y aromáticos.

#### **6.5.2. De la Cromatografía de gases acoplada con espectroscopía de masas del aceite esencial.**

Los componentes del aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, se determinaron por cromatografía gaseosa y por cromatografía de gases con detector de masas y se identificaron de acuerdo a los índices de retención relativos (IR) a una serie homóloga de ésteres metílicos de ácidos grasos ( $C_4$ - $C_{20}$ ), y por índices de Kovats (IK) para una columna capilar no polar y se los comparó con los espectros de masa almacenados en bancos de datos (Adams, 2001; Wiley 7<sup>th</sup> Ed., 2000; NIST/EPA/NIM Mass Spectral Library, vers. 2.0, 2002, datos de bancos propios) y con datos bibliográficos<sup>1,2,3,9,21,27</sup>

La cromatografía de gases (Gráfico N° 05) indica que el aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle presenta por lo menos 30 componentes de los cuales 10 fueron identificados (Espectros de masas en el Anexo 07).

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes aproximados de cada uno de estos compuestos encontrados.

**TABLA Nº 16**

**Composición porcentual del aceite esencial de lima Cambray**  
*citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*

Nº	TR	Compuesto	PM	Área	% Área Iden	% Área Otros
1	8,8	No identificado		50250		0,4969
2	10,26	$\alpha$ -Tuyeno	136	78394	0,7752	
3	10,48	$\beta$ -Pineno	136	512427	5,0669	
4	10,79	$\beta$ -Mirceno	136	512427	5,0669	
5	11,5	No identificado		820		0,0081
6	11,8	No identificado		820		0,0081
7	12,14	Limoneno	136	6091941	60,2372	
8	12,7	Cis- $\beta$ -Ocimeno	136	141288	1,3971	
9	13,12	No identificado		820		0,0081
10	13,65	No identificado		540		0,0053
11	13,85	No identificado		820		0,0081
12	14,66	Acetato de linalilo (1)	196	1354190	13,3903	
13	15,26	No identificado		820		0,0081
14	17,28	No identificado		820		0,0081
15	17,79	(+)- $\alpha$ -terpineol	154	60964	0,6028	
16	18,02	No identificado		820		0,0081
17	18,48	No identificado		820		0,0081
18	19,14	Acetato de linalilo (2)	196	966538	9,5571	
19	19,26	No identificado		15449		0,1528
20	19,41	No identificado		540		0,0053
21	19,95	No identificado		15449		0,1528
22	22,15	No identificado		540		0,0053
23	22,26	No identificado		60964		0,6028
24	22,95	No identificado		141288		1,3971
25	24,15	No identificado		820		0,0081
26	24,35	Cis- $\beta$ -Farneseno	204	50250	0,4969	
27	26,32	No identificado		820		0,0081
28	26,45	5-(2,2-dimetilciclopropil)-2-metil-4-metenil-1-penteno	164	50250	0,4969	
29	28,37	No identificado		540		0,0053
30	31,18	No identificado		820		0,0081
Total				10096160	97,0873	2,9127

La cuantificación se realizó por el método de porcentaje de áreas, sin corrección por diferencias de respuesta. Se tomó para cada componente la menor respuesta obtenida entre las correspondientes a cada columna usada. En el Anexo N° 08 se muestra la asignación de picos para cada componente encontrado.

De los compuestos identificados se encuentran en mayor proporción el Limoneno (60,24%) y el acetato de linalilo (22,95%).

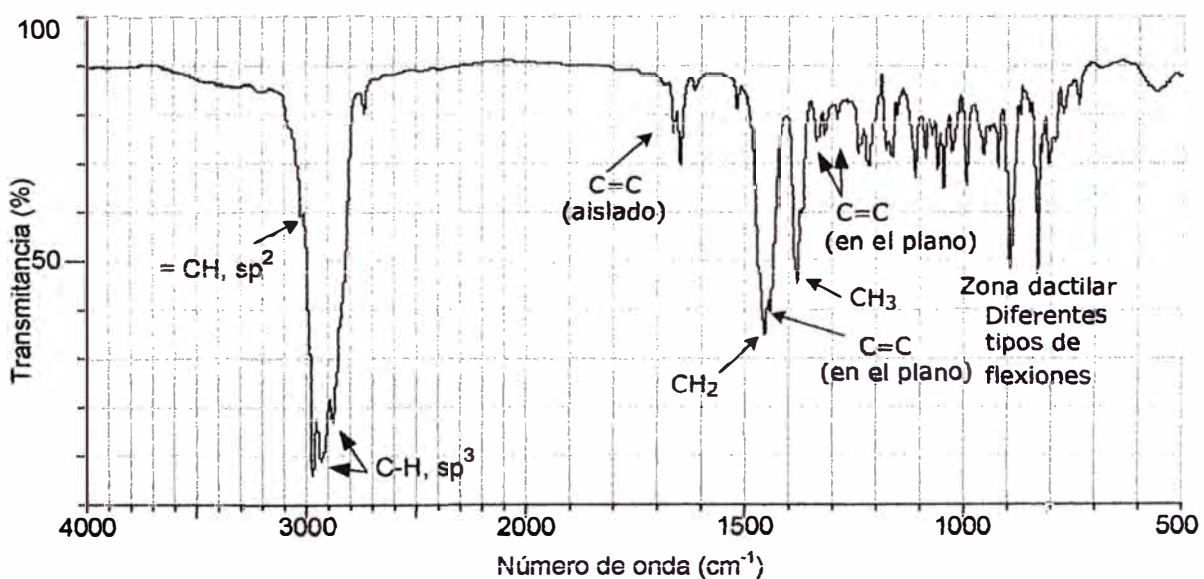
## 6.6. Caracterización de los compuestos "X1" y "X2".

### 6.6.1. Por Espectroscopia IR.

Del espectro IR del compuesto "X1" (ver Gráfico N° 06) se han obtenido las bandas de absorción que están tabuladas en la Tabla N° 11. Con estos datos y con la ayuda de Tablas espectroscópicas para absorción IR de grupos funcionales representativos (ver Anexo N° 02) asignamos el grupo atómico más probable a cada banda de absorción.

### GRÁFICO N° 06

Espectro IR del compuesto "X1".



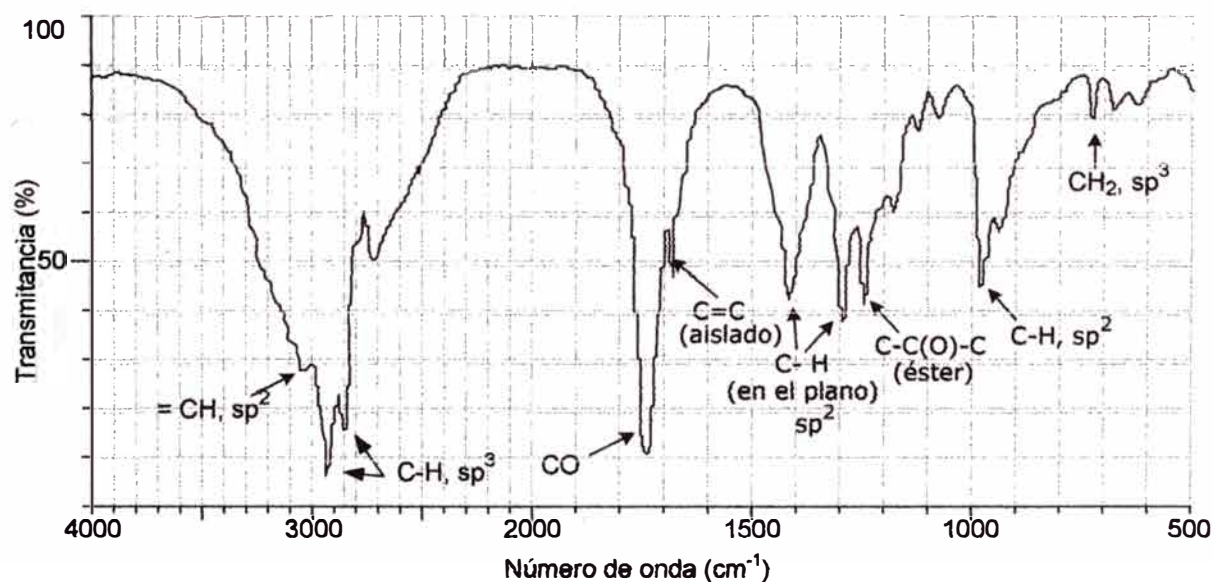
En el espectro IR se observa las principales absorciones a  $3015\text{ cm}^{-1}$ ,  $1662\text{ cm}^{-1}$ ,  $1645\text{ cm}^{-1}$ ,  $1615\text{ cm}^{-1}$  que indican la presencia de insaturaciones  $\text{sp}^2$  y las absorciones en  $2968\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$  indican carbonos de hibridación  $\text{sp}^3$ . En la Tabla N° 11 se resumen las absorciones en el IR del compuesto "X1" de aceite esencial de lima Cambray y los grupos funcionales presentes.

Concluimos indicando que el compuesto "X1" es un hidrocarburo insaturado que presenta por lo menos dos dobles enlaces aislados.

De la misma manera procedemos para el compuesto "X2".

De su espectro IR (ver Gráfico N° 07) se han obtenido las bandas de absorción que están tabuladas en la Tabla N° 12.

**GRÁFICO N° 07**  
**Espectro IR del compuesto "X2".**



En el espectro IR se observan principales absorciones a  $3040\text{ cm}^{-1}$ ,  $1680\text{ cm}^{-1}$ ,  $1417\text{ cm}^{-1}$ ,  $1295\text{ cm}^{-1}$  que indican la presencia de insaturaciones  $\text{sp}^2$  y las absorciones en  $2940\text{ cm}^{-1}$ ,  $2860\text{ cm}^{-1}$  indican

carbonos de hibridación  $sp^3$ . La absorción a  $1740\text{cm}^{-1}$  indica la presencia de grupo carbonilo perteneciente a un éster que se respalda con el pico a  $1247\text{cm}^{-1}$  que indica la absorción del grupo C-C(O)-C.

Las absorciones en el IR del compuesto "X2" de aceite esencial de lima Cambray y sus grupos funcionales se resumen en la Tabla N° 12.

Por lo tanto, el compuesto "X2" es una sustancia oxigenada que presenta grupo carbonilo y dobles enlaces aislados. El pico intenso del grupo carbonilo a  $1740\text{cm}^{-1}$  nos indica que se trata de un éster.

#### **6.6.2. Por espectroscopia UV.**

El compuesto "X1" presenta absorciones a 246 y 260 nm y el compuesto "X2" a 220 y 253 nm. (Ver Anexo N° 06)

#### **6.6.3. De la cromatografía de gases acoplada con masas de los compuestos "X1" y "X2".**

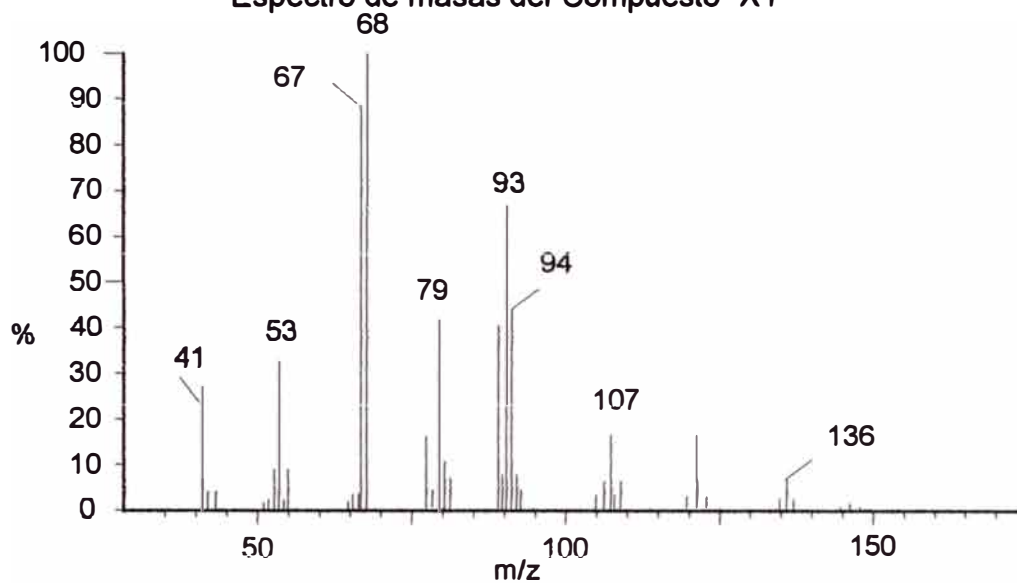
De los cromatogramas obtenidos de las fracciones eluidas se han determinado la presencia de por lo menos dos componentes principales (mayor porcentaje) debido la intensidad de las manchas al ser reveladas y sus  $R_f$  obtenidos (0,68 y 0,86)

Del espectro de masas del compuesto "X1" (ver Anexo N° 09) se obtienen los Gráficos N° 08 y N° 09 donde se observa que existen compatibilidades, en cuanto a los valores de  $m/z$  de los iones producidos en la fragmentación y sus abundancias relativas, entre compuesto "X1" y el limoneno. Esta comparación se muestra en la Tabla N° 17.



### GRÁFICO Nº 08

Aceite esencial de lima Cambray  
Espectro de masas del Compuesto "X1"



### GRÁFICO Nº 09

Espectro de masas del Limoneno (Patrón)

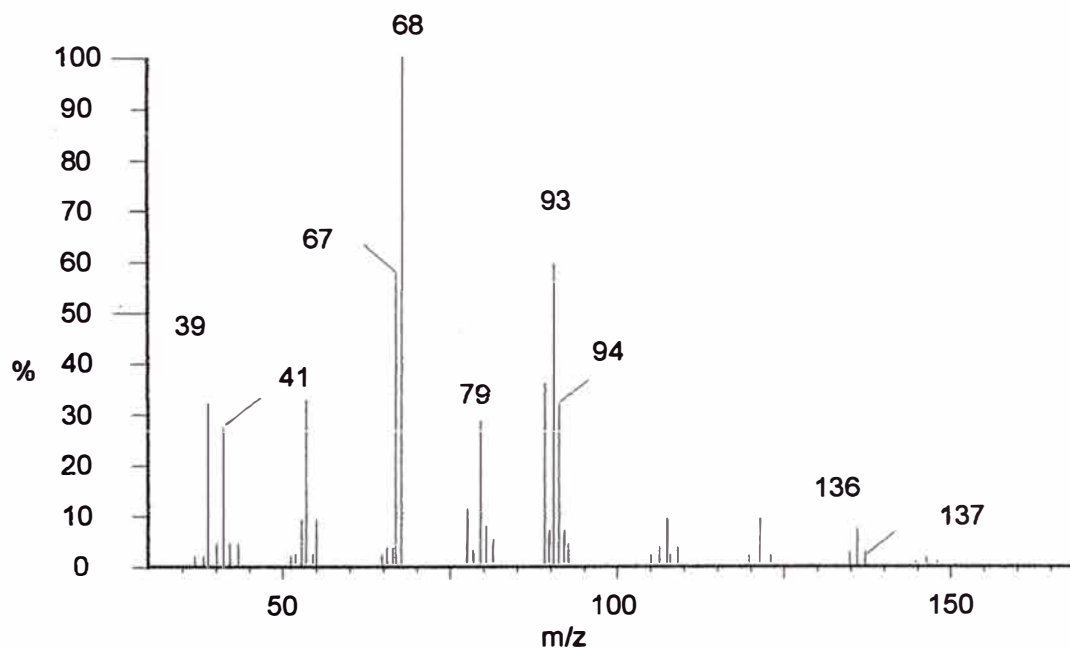
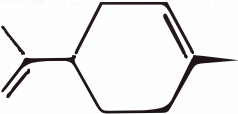


TABLA Nº 17

Abundancia de iones fragmentados del compuesto "X1" y del limoneno patrón referencial

Compuesto "X1"		Limoneno (Patrón)	
m/z	Abundancia relativa (%)	m/z	Abundancia relativa (%)
68	100	68	100
67	88,4	67	57,6
93	67,1	93	59,8
94	44,2	94	31,9
79	41,8	79	28,6
91	32,6	91	36
53	32,6	53	32,9
41	27,2	41	27,2
107	10,6	107	9,4
136	7,2	136	7,2

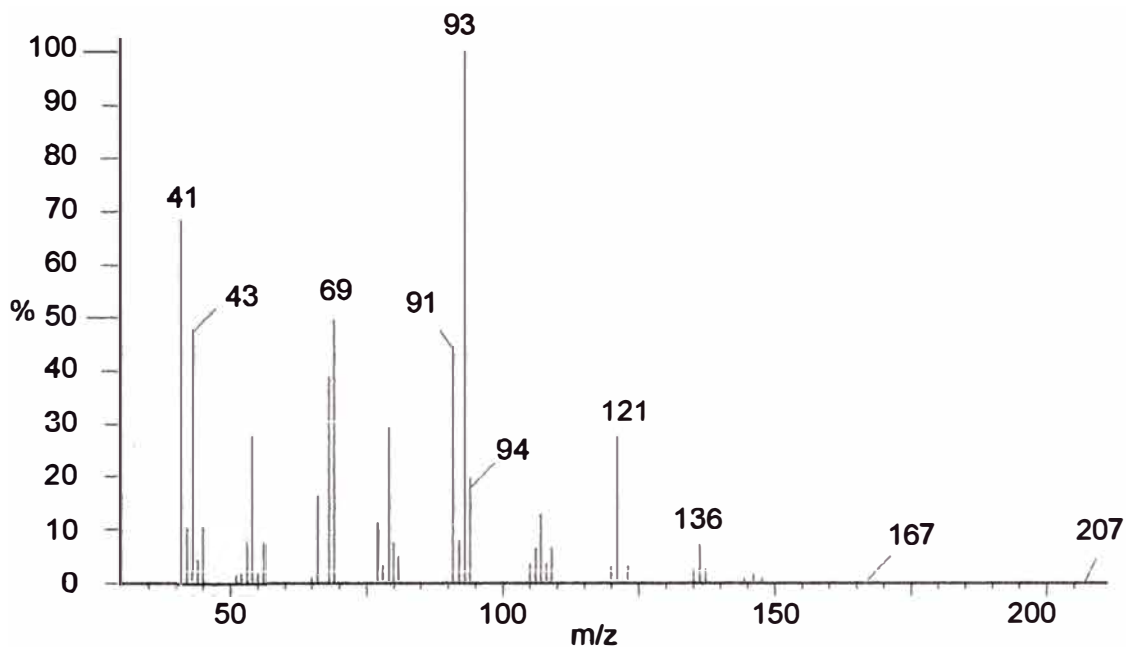
Esta similitud de valores permite dilucidar con bastante certeza que el compuesto "X1" es el LIMONENO. Posteriormente se confirmó analizando los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de este compuesto problema en la sección 6.6.4.

Nombre	Estructura	Fórmula	Peso Molecular
Limoneno		C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136

Del espectro de masas del compuesto "X2" (ver Anexo N° 09) se obtienen los gráficos N° 10 y N° 11.

### GRÁFICO N° 10

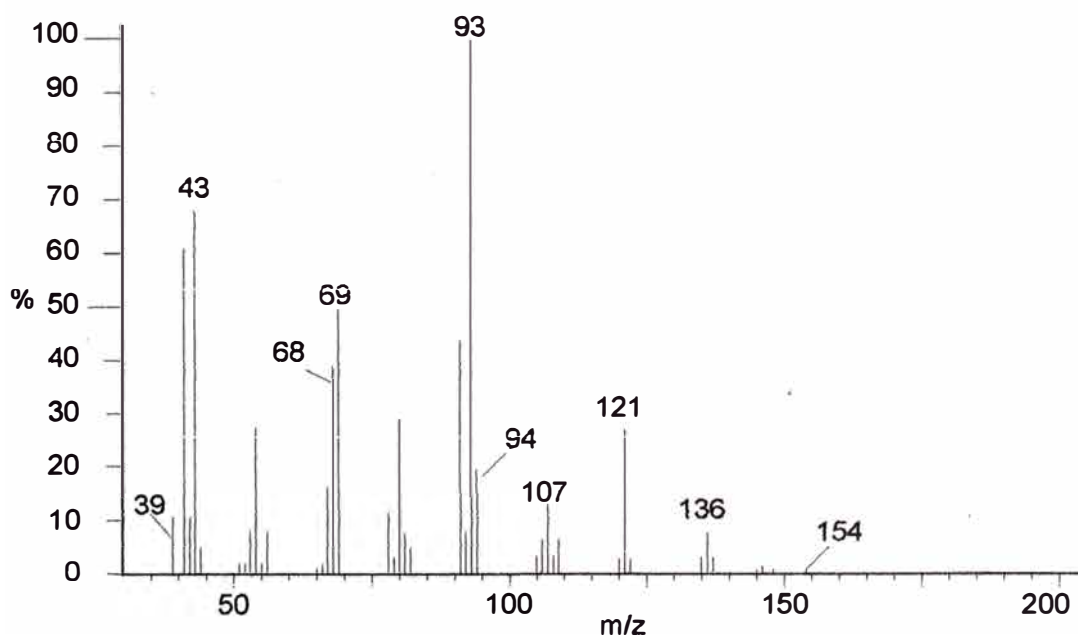
Aceite esencial de lima Cambray  
Espectro de masas del compuesto "X2"



### GRÁFICO N° 11

Espectro de masas del Acetato de Linalilo (Patrón)

1,6-OCTADIEN-3-OL,3,7-DIMETHYL-, AC




Observando estos gráficos se encuentra similitud en cuanto a los valores de m/z de los iones producidos en la fragmentación y sus abundancias relativas entre el compuesto "X2" y su patrón referencial. Esta comparación se muestra en la siguiente tabla.

**TABLA N° 18**

**Abundancia de iones fragmentados compuesto "X2" y del acetato de linalilo patrón referencial.**

Compuesto "X2"		Acetato de Linalilo (Patrón)	
m/z	Abundancia relativa (%)	m/z	Abundancia relativa (%)
93	100	93	100
43	57,4	43	68
41	68,6	41	60
69	49,8	69	49,5
68	39	68	39
121	27,6	121	27,2
94	19,8	94	19,8
107	13,2	107	13
39	--	39	10,4
136	7,4	136	7,8
154	---	154	0,4

Estos datos espectrales indican que el compuesto "X2" sería el ACETATO DE LINALILO.

Nombre	Estructura	Fórmula	Peso Molecular
Acetato de Linalilo		C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196

#### 6.6.4. Elucidación de la estructura molecular del compuesto "X1".

Para obtener la estructura molecular del compuesto "X1" se utilizan sus espectros de masa (Gráfico N° 08), espectro IR (Gráfico N° 06) y los espectros de Resonancia magnética Nuclear Protónica ( $^1\text{H}$ ) y de  $^{13}\text{C}$  (ver Anexo N° 10). <sup>15</sup>

##### 1) Hallamos la fórmula molecular:

Del espectro de masas obtenemos un pico molecular de relación  $m/z$  136.

Aplicamos la regla del 13, obteniendo:  $136/13 = 10$ ; Resto = 6

$$\text{Fórmula} = C_{\text{cociente}} H_{\text{cociente} + \text{resto}}$$

La fórmula general será:



##### 2) Hallamos el Número de insaturaciones.

$$\text{N.I.} = \{(2 \cdot n^\circ \text{C} - n^\circ \text{H} + n^\circ \text{N})/2\} + 1$$

$$\text{N.I.} = (2 \cdot 10 - 16)/2 + 1 = 3 \text{ insaturaciones}$$

##### 3) Encontramos los grupos funcionales presentes:

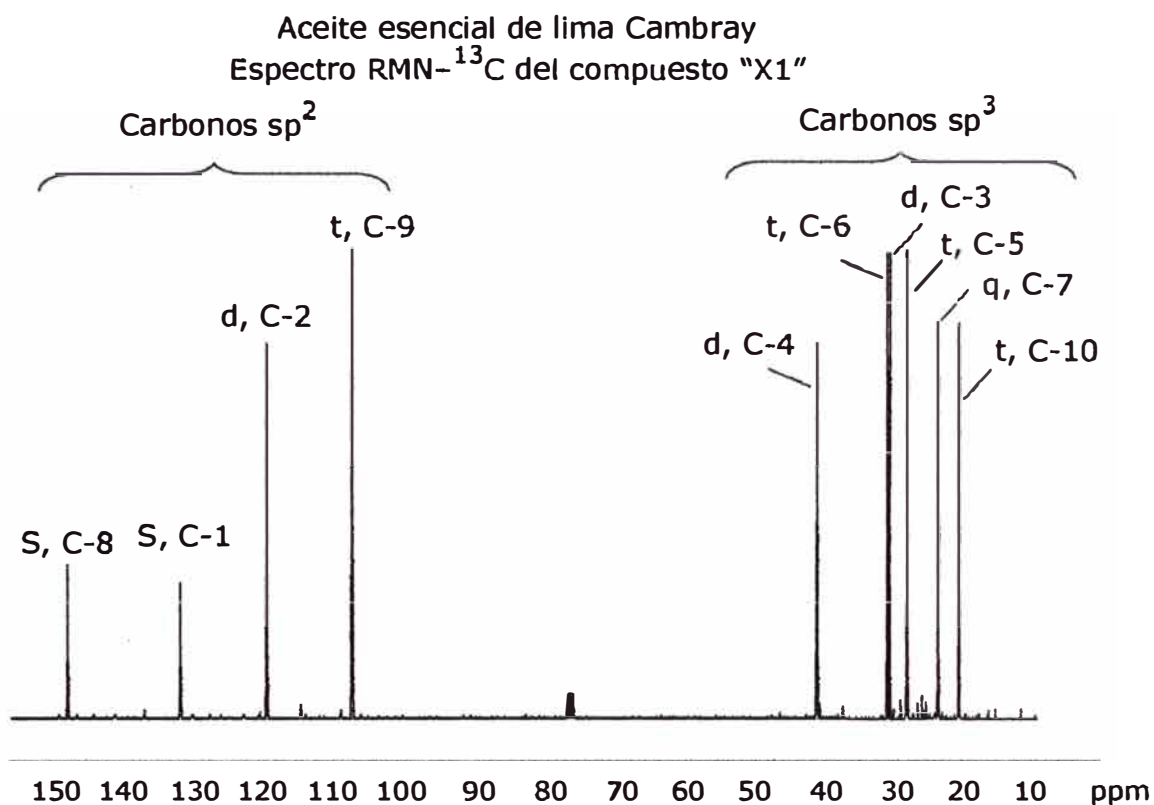
Del espectro IR (Gráfico N° 06) se determinó que el compuesto problema es un hidrocarburo insaturado y no es aromático porque presenta solo tres insaturaciones. (Un anillo aromático de 6 carbonos equivale a 4 insaturaciones)

Entonces la fórmula será:  $C_{10}H_{16}$

##### 4) Subestructuras y conectividades:

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN del compuesto "X1" aparecen 10 señales que se indican 10 carbonos diferentes.

## GRÁFICO Nº 12



Del estudio del espectro RMN de <sup>13</sup>C, se puede afirmar que la estructura de nuestro compuesto presenta dos enlaces carbono - carbono al encontrarse cuatro carbonos  $sp^2$ , y como se había indicado que la fórmula molecular del compuesto problema presenta tres insaturaciones significa que la otra insaturación es equivalente a un ciclo. Es decir la estructura carbonada es un alicíclico.

Las señales a 23,7 ppm y 20,5 ppm son de carbonos primarios y la señal a 41,2 ppm es un carbono primario y las otras señales: 28,0 ppm; 30,6 ppm y 30,8 ppm deben corresponder a carbonos secundarios. En carbonos  $sp^3$  aumenta el desplazamiento a medida que aumenta la sustitución.

Las señales a 149,6 ppm y 133,1 ppm deben corresponder a carbonos sin hidrógenos que presenta hibridación  $sp^2$ .

A continuación se detallan e identifican en una tabla los tipos de carbono presentes en la estructura del compuesto "X1"

TABLA N° 19

Caracterización de los átomos de carbono del compuesto "X1".

$\delta$ , (ppm)	Multiplicidad	Tipo de Carbono Probable
149,6	s	C
133,1	s	C
120,8	d	=CH
108,4	t	=CH <sub>2</sub>
41,2	d	- CH -
30,8	t	- CH <sub>2</sub> -
30,6	d	- CH <sub>2</sub> -
28,0	t	- CH <sub>2</sub> -
23,7	q	- CH <sub>3</sub>
20,5	t	- CH <sub>3</sub>

Como la estructura tiene un ciclo es probable que la señal a 120,8 ppm y a 133,1 ppm corresponda a carbonos que estén constituyendo este anillo y además este último esté soportando a un radical.

Veamos que ocurren en el análisis del espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto "X1". (Gráfico N° 13)

Se observa por lo menos seis tipos de hidrógenos diferentes. De acuerdo a la integración de picos la señal a 5,39 ppm corresponde a 1 H, las señales a 1,73 ppm y 1,64 ppm corresponden a 3H cada uno y al presentarse como singuletes no tienen hidrógenos vecinos; esto indica que pertenecen a grupos metilos unidos a carbonos sin hidrógeno.

La señal a 4,70 ppm que equivale a dos hidrógenos que al salir como singulete tampoco tiene protones vecinos y al tener hibridación  $sp^2$  debe ser de la forma  $=CH_2$  unido a carbono sin hidrógeno.

Las señales comprendidas entre 1,4 ppm - 2,2 ppm que al salir como multipletes corresponden a hidrógenos que tiene varios vecinos y deben ser protones cercanos a grupos  $-CH_2-$ .

El resumen de los tipos de hidrógenos observados en el espectro de resonancia magnética protónica están tabulados en la Tabla Nº 20.

### GRÁFICO Nº 13

Aceite esencial de lima Cambray  
Espectro RMN- $^1H$  del compuesto "X1"

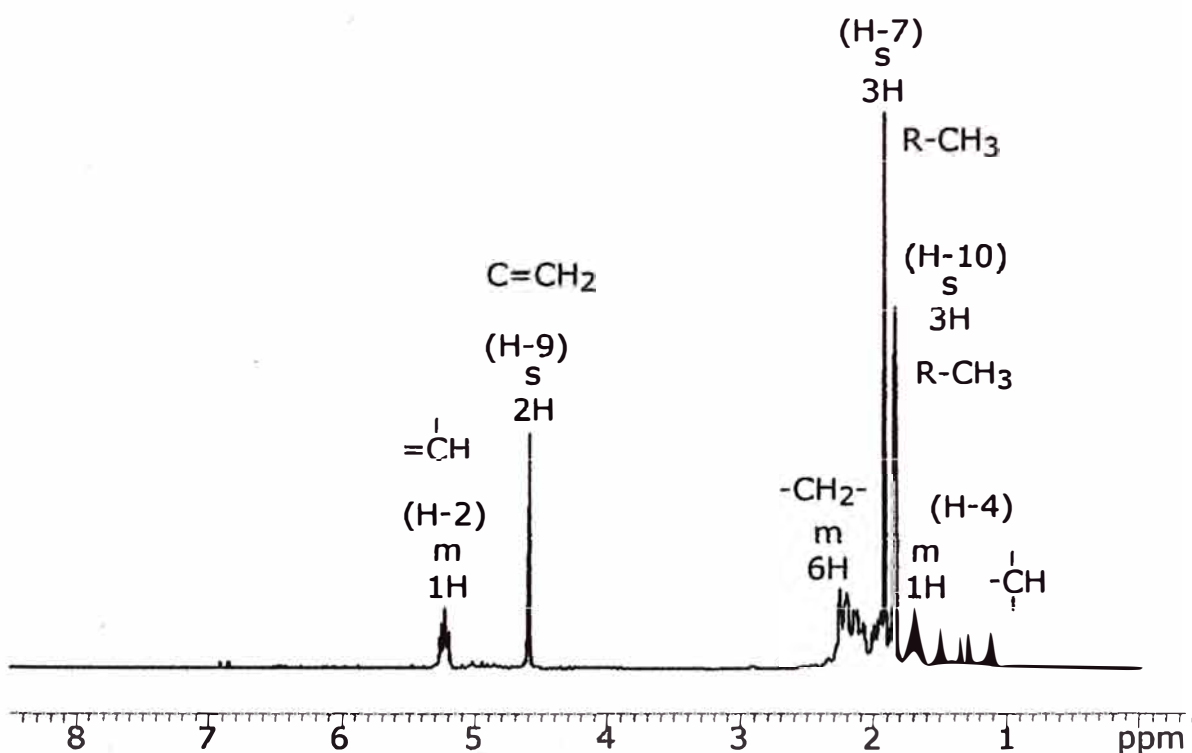


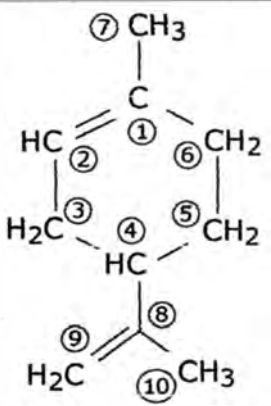
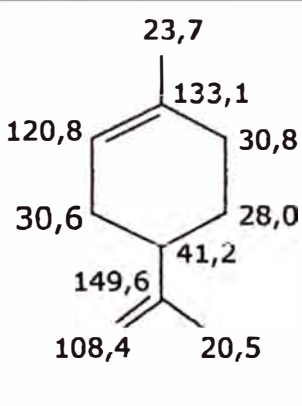
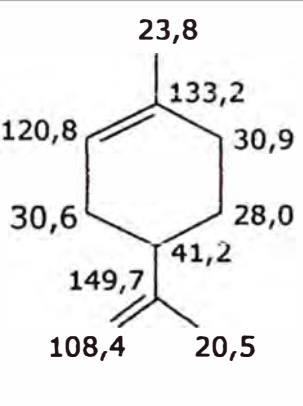


TABLA Nº 20

Desplazamiento químico de los átomos de hidrógeno del compuesto "X1".

$\delta$ , (ppm)	multiplicidad	Integración	Tipo de hidrógeno
5,39	m	1H	H-2
4,70	s	2H	H-9
1,4 - 2,2	m		H-3, H-4, H-5 y H-6
1,73	s	3H	H-7
1,64	s	3H	H-10

5) Conociendo las características de los carbonos e hidrógenos y posibles subgrupos construimos la siguiente estructura molecular:


compuesto "X1"	Limono
	
	

Se observa que los desplazamientos químicos de los átomos de carbono del compuesto "X1" encontrados experimentalmente son muy similares a los reportados para el Limono. <sup>17</sup>

6) Justificación de la estructura.

- Formula molecular:  $C_{10}H_{16}$
- Presenta dos enlaces dobles y un anillo los que equivalen a tres insaturaciones

- c) Los dos dobles enlaces le confieren absorción a longitudes de onda altas:  $\lambda_{\max} = 259 \text{ nm}$ . En la bibliografía <sup>14</sup> se reporta  $\lambda_{\max} = 262 \text{ nm}$  para el Limoneno.
- d) Los hidrógenos 7, 9 y 10, al no tener protones vecinos se muestran como singuletes lo que confirma que los carbonos 1 y 8 no tienen carbonos
- e) En el espectro de masas se observa picos a m/z:

m/z	Fragmento
136	(M <sup>+</sup> ) ión molecular
121	(M <sup>+</sup> - CH <sub>3</sub> )
41	(CH <sub>2</sub> =CH-CH <sub>2</sub> ) <sup>+</sup>
67	(CH <sub>3</sub> -C=CH-CH=CH <sub>2</sub> ) <sup>+</sup>
68	(CH <sub>3</sub> -CH=CH-CH=CH <sub>2</sub> )
93	

Finalmente concluimos que la estructura dilucidada correspondiente al compuesto "X1" del aceite de lima Cambray, *citrus aurantifolia* (*Christm.*) Swingle, se identifica como LIMONENO.

## VII. CONCLUSIONES.

1. Se logró caracterizar la estructura del compuesto "X1" principal componente del aceite esencial de lima, variedad Cambray, mediante sus espectros de IR, CG, EM, RMN-<sup>13</sup>C y RMN-<sup>1</sup>H como LIMONENO.
2. Los análisis cromatográficos y espectroscópicos del compuesto "X2" confirman que se logró aislar y caracterizar como ACETATO DE LINALILO.
3. Los componentes principales del aceite esencial de lima Cambray, *citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle reportados por cromatografía de gases y espectroscopía de masas son: el Limoneno (60,24%), el acetato de linalilo (22,95%), β-Pineno (5,07%), β-Mirceno (5,07%), Cis-β-ocimeno (1,40 %), α-Tuyeno (0,78%), (+)-α-terpineol (0,60%), Cis-β-Ferneseno (0,50%) y 5-(2,2-dimetilciclopropil)-2-metil-4-metenil-1-penteno (0,50%).

## VIII. BIBLIOGRAFÍA:

- 1 ALBALADEJO MEROÑO Querubina, El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales, Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria Departamento de Tecnología de los Alimentos Nutrición y Bromatología, 1999.
- 2 ACEVEDO, Belén A., RICCIARDI, Gabriela L., DELLACASSA, Eduardo, AVANZA, Jorge R., Componentes volátiles del aceite esencial de Lima Rangpur (citrus limonia osbeck), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. UNNE, Montevideo, Uruguay, 2006.
- 3 BLAGO RAZMILIC, Principios Básicos de Cromatografía, Merck Química Chilena Soc. Ltda.  
[www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S04.htm](http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S04.htm)
- 4 CHAVES, María G. - MONTIEL, Graciela M. - SGROPPO, Sonia C. - AVANZA, Jorge R., Caracterización del jugo de Lima Rangpur (Citrus Limonia Osbeck), Laboratorio de Tecnología Química - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura - UNNE. Corrientes - Argentina, 2000.
- 5 CHOI Hyang-Sook and SAWAMURA Masayoshi, Composition of the Essential Oil of Citrus tamurana Hort. ex Tanaka (Hyuganatsu), J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 4868-4873
- 6 COLECIO JUÁREZ M.C, JIMÉNEZ ISLAS H, BOTELLO ÁLVAREZ J.E, MARTÍNEZ GONZÁLEZ G.M, Caracterización del Aceite Esencial de Lima Dulce (citrus limetta) En Sus Diferentes Estados De Madurez. Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, 2005

- 7 DE LEÓN SOLÍS Claudia Alejandra, Implementación de un método para determinar la calidad del aceite esencial de limón (*Citrus aurantifolia*) por cromatografía en capa fina y ESPECTROSCOPIA ultravioleta como método alterno a la cromatografía de gases, Guatemala, 2004.
- 8 DELLACASSA E., Cromatografía Gaseosa, Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales. Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Febrero 2002.
- 9 DUGO Paola, MONDELLO Luigi, COGLIANDRO Eugenia, VERZERA Antonella, and DUGO Giovanni, On the Genuineness of Citrus Essential Oils. Oxygen Heterocyclic Compounds of Bitter Orange Oil (*Citrus aurantium* L.), J. Agric. Food Chem., 1996, 44, 544-549
- 10 Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Salud, Sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, DIARIO OFICIAL, Lunes 17 de julio de 2006.
- 11 GUENTHER Ernest S. y LANGENAU Edward E., Investigación de los Componentes Químicos del Destilado de Aceite de Lima (*Citrus Medica*, L., Var. *Acida*, Brandis) (*Citrus Aurantifolia*, Swingle), Laboratorio De Fritzschn Brothers, Inc., mayo de 1942.
- 12 LAGO João Henrique G, FÁVERO Oriana A. ROMOFF and Paulete, Microclimatic Factors and Phenology Influences in the Chemical Composition of the Essential Oils from *Pittosporum undulatum* Vent. Leaves, J. Braz. Chem. Soc., 2006, Vol. 17, No. 7, 1334-1338,
- 13 LOCK DE UGAZ Olga, Investigación fitoquímica. Método de estudio de productos naturales, Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.
- 14 MARTÍNEZ M.Alejandro, Aceites Esenciales, Universidad de Antioquia, Facultad Química Farmacéutica, Medellín, Febrero 2003.

- 15 QUIORED, "Tutorial de Espectroscopía - Elucidación Estructural" Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química orgánica. Proyecto de Innovación de Recursos Educativos de Química Orgánica 2002-2004. [quiorred@ugr.es](mailto:quiorred@ugr.es)
- 16 RUBERTO Giuseppe, RENDA Agatino, PIATTELLI Mario, RAPISARDA Paolo and STARRANTINO Angelo, Essential Oil of Two New Pigmented Citrus Hybrids, Citrus clementina x Citrus sinensis, J. Agric. Food Chem. 1997, 45, 467-471.
- 17 TAPIA OPAZO Tania Gloria, Estudio de la Composición Química de Volátiles de Raíces de Trébol Rosado (trifolium pratense) de Diferentes Estados de Desarrollo y su Eventual Efecto Atractor hacia el insecto Hylastinus Obscurus, Tesis Oara Optar el Grado Académico de magíster en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de la frontera, Temuco, Chile, 2005.
- 18 VERZERA Antonella, TROZZI Alessandra, ZAPPALÀ Mario, CONDURSO Cettina y COTRONEO Antonella, Essential Oil Composition of Citrus meyerii Y. Tan. and Citrus medica L. cv. Diamante and Their Lemon Hybrids, J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 4890-4894.
- 19 Rondina & Coussio, "Métodos de Análisis Fitoquímico de Productos Naturales", 1969.

#### Linkografía:

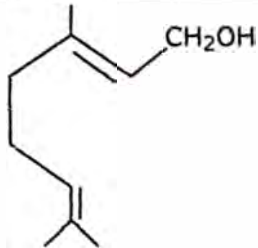
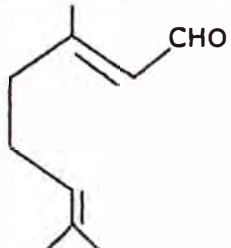

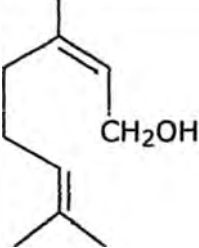
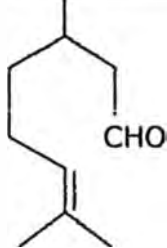
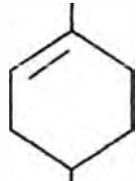
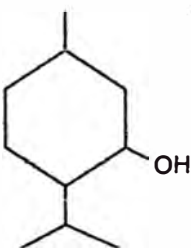
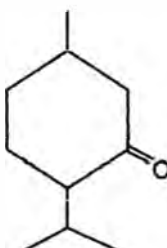
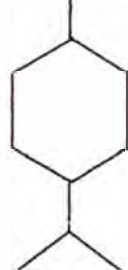
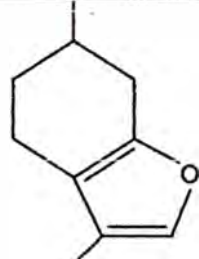
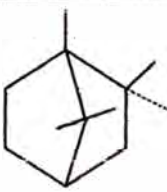
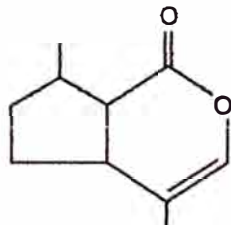
- 20 <http://mail.fq.edu.uy/~planta/pdf/FarmacognosiaPE80/bolilla4.pdf>.
- 21 [www.umich.mx/museo/hist-natural/botanica/planta-medicinal](http://www.umich.mx/museo/hist-natural/botanica/planta-medicinal)
- 22 <http://html.rincondelvago.com/obtencion-del-limoneno.html>
- 23 [http://catarina.udlap.mx/u\\_dla/tales/documentos/lcf/perez\\_g\\_le/capitulo5.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dla/tales/documentos/lcf/perez_g_le/capitulo5.pdf)
- 24 [http://es.geocities.com/qo\\_10\\_rmn/](http://es.geocities.com/qo_10_rmn/)
- 25 <http://www.ch.ic.ac.uk/wiki/index.php/It:limonene>
- 26 [http://es.wikipedia.org/wiki/Citrus\\_%C3%97\\_limonia](http://es.wikipedia.org/wiki/Citrus_%C3%97_limonia)

# ANEXOS

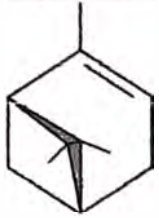
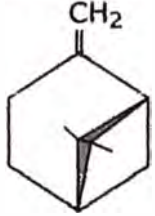

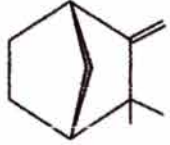
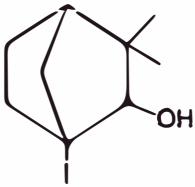
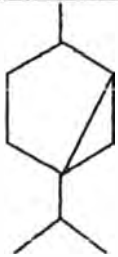
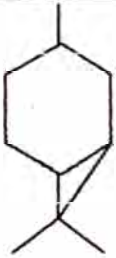
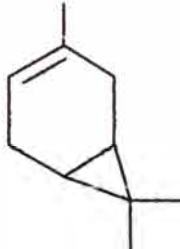
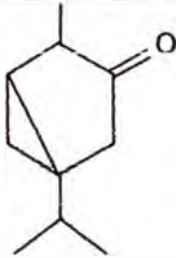
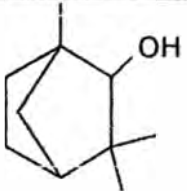
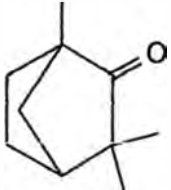

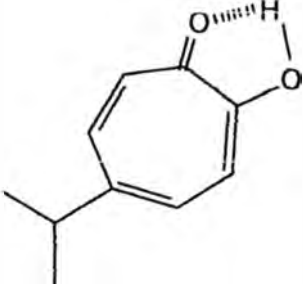
## ANEXO Nº 01

### ESTRUCTURAS DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES

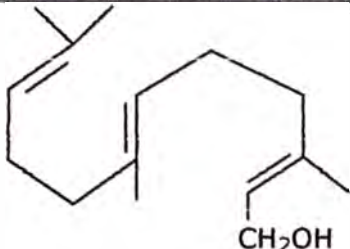
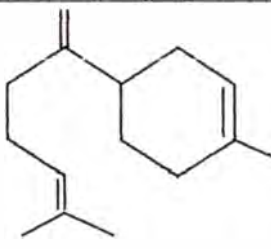
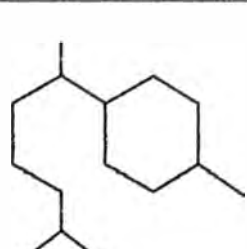
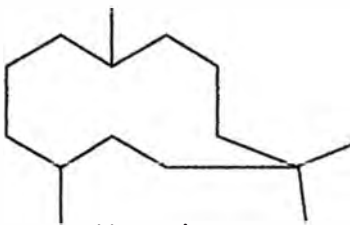
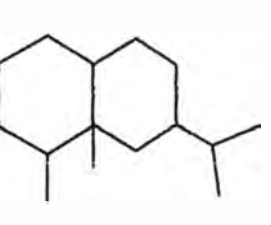
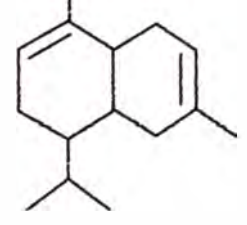
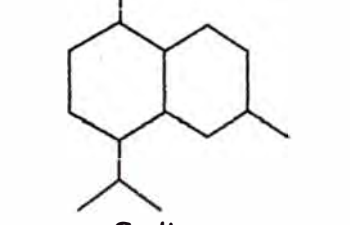
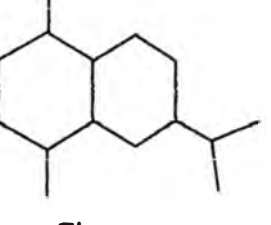
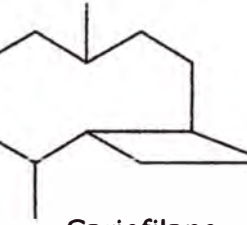
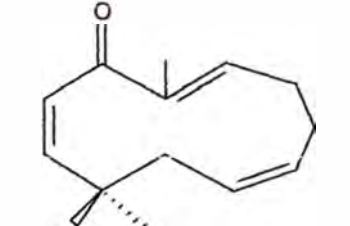
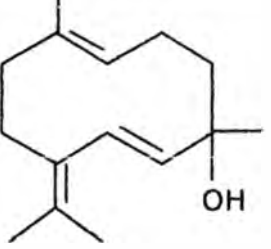
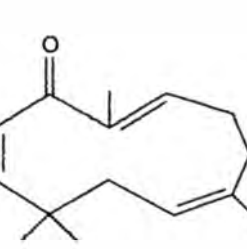
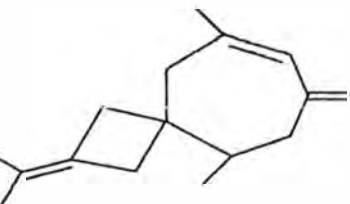
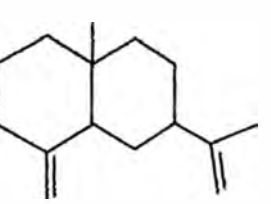
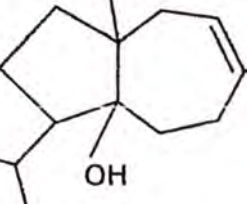
#### Monoterpenos:

 <p>Geraniol</p>	 <p>Citral</p>	 <p>Mirceno</p>
 <p>Nerol</p>	 <p>Citronelal</p>	 <p>CH<sub>2</sub>=C-CH<sub>3</sub> LIMONENO</p>
 <p>Mentol</p>	 <p>MENTONA</p>	 <p>Mentano</p>
 <p>MENTOFURANO</p>	 <p>BOMEOL RH ACETATO DE BOMILO R - CH<sub>3</sub>CO</p>	 <p>NEPETALACTONA</p>


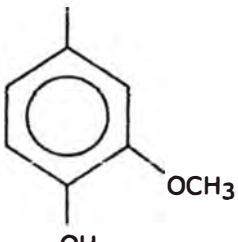

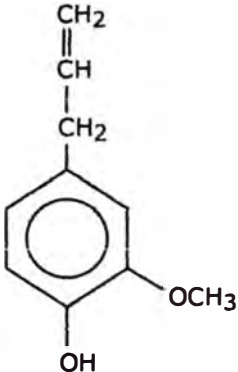
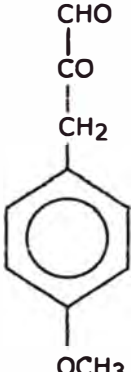
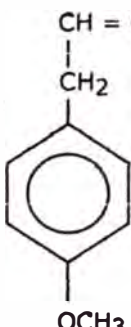
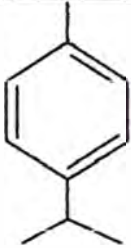
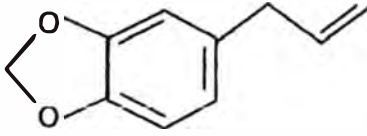
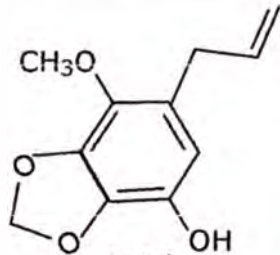


 <p><math>\alpha</math> - pineno</p>	 <p><math>\beta</math>- pineno</p>	 <p>ALCANFOR</p>
 <p>CANFENO</p>	 <p>CINEOL</p>	 <p>Tuyano</p>
 <p>Carano</p>	 <p>Car-3-eno</p>	 <p>Tuyona</p>
 <p>Alcohol Fenhílico</p>	 <p>Fenchona</p>	 <p>Canfano</p>
 <p><math>\gamma</math> Thuyaplicina</p>		

**Sesquiterpenos:**

 <p>Farnesol</p>	 <p>BISABOLENO</p>	 <p>Bisalolano</p>
 <p>Humulano</p>	 <p>Eremofilano</p>	 <p>Cadineno</p>
 <p>Cadinano</p>	 <p>Elemano</p>	 <p>Cariofilano</p>
 <p>HUMULENO</p>	 <p>Nerolidol</p>	 <p>XERUMBONA</p>
 <p>VETNONA</p>	 <p><math>\beta</math>-Selineno</p>	 <p>Carotol</p>

**Fenilpropanos:**

<p style="text-align: center;">CHO</p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;"><b>ANISALDEHIDO</b></p>	<p style="text-align: center;">CHO</p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;">OH</p> <p style="text-align: center;"><b>VAINILLINA</b></p>	<p style="text-align: center;">CH = CHCH<sub>3</sub></p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;"><b>ANETOL</b></p>
<p style="text-align: center;">CH<sub>2</sub></p> <p style="text-align: center;">  </p> <p style="text-align: center;">CH</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">CH<sub>2</sub></p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;">OH</p> <p style="text-align: center;"><b>EUGENOL</b></p>	<p style="text-align: center;">CHO</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">CO</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">CH<sub>2</sub></p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;"><b>ANISONA</b></p>	<p style="text-align: center;">CH = CH<sub>2</sub></p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">CH<sub>2</sub></p>  <p style="text-align: center;">OCH<sub>3</sub></p> <p style="text-align: center;"><b>ESTRAGOL</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>FELANDRENO</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>Safrol</b></p>	 <p style="text-align: center;">CH<sub>3</sub>O</p> <p style="text-align: center;">OH</p> <p style="text-align: center;"><b>Apiol</b></p>

## ANEXO Nº 02


### TABLAS DE ESPECTROSCOPIA

#### ESPECTROSCOPIA UV/VIS

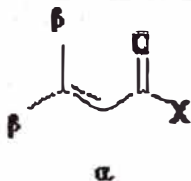
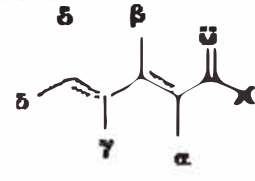
##### Absorciones típicas UV/Vis para cromóforos aislados

Cromóforo	Transición	$\lambda_{\max}$	$\log(\epsilon)$
nitrilo	$\eta \rightarrow \pi^*$	160	<1,0
alquino	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3,0
alqueno	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3,0
alcohol	$\eta \rightarrow \sigma^*$	180	2,5
éter	$\eta \rightarrow \sigma^*$	180	3,5
cetona	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3,0
	$\eta \rightarrow \pi^*$	280	1,5
aldehído	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	2,0
	$\eta \rightarrow \pi^*$	290	1,0
amina	$\eta \rightarrow \sigma^*$	190	3,5
ácido	$\eta \rightarrow \pi^*$	205	1,5
éster	$\eta \rightarrow \pi^*$	205	1,5
amida	$\eta \rightarrow \pi^*$	210	1,5
tiol	$\eta \rightarrow \sigma^*$	210	3,0
nitro	$\eta \text{ to } \pi^*$	271	<1,0
azo	$\eta \rightarrow \pi^*$	340	

##### Reglas para dienos de Woodward y Fieser

	Homoanular (cisolde)	Heteroanular (transolde)
Valor Básico	$\lambda=253 \text{ nm}$	$\lambda=214 \text{ nm}$ $=217 \text{ (acíclico)}$
Incrementos para:		
Doble enlace conjugado adicional	30	30
Sustituyente alquilo o resto de anillo	5	5
Doble enlace exocíclico	5	5
Grupos polares:		
-OC(O)CH <sub>3</sub>	0	0
-OR	6	6
-Cl, -Br	5	5
-NR <sub>2</sub>	60	60
-SR	30	30

## Reglas de Woodward para compuestos carbonílicos conjugados

			
<b>Valores básicos:</b>			
X = R			
Enona de partida con anillo de seis miembros o acíclica	λ=215 nm		
Enona de partida en anillo de cinco miembros	λ=202 nm		
Dienona acíclica	λ=245 nm		
X = H	λ=208 nm		
X = OH, OR	λ=193 nm		
<b>Incrementos para</b>			
Doble enlace conjugado adicional	30		
Doble enlace exocíclico	5		
Doble enlace endocíclico en un anillo de 5- o 7- miembros para X = OH, OR	5		
Componente diénico homocíclico	39		
Sustituyente alquilo o resto de anillo	α	10	
	β	12	
	γ o superior	18	
<b>Grupos polares</b>			
-OH	α	35	
	β	30	
	δ	50	
-OC(O)CH <sub>3</sub>	α,β,γ,δ	6	
	-OCH <sub>3</sub>	α	35
		β	30
γ		17	
-Cl	δ	31	
	α	15	
	β,γ,δ	12	
-Br	β	30	
	α,γ,δ	25	
	β	95	
-NR <sub>2</sub>	β	95	
<b>Corrección por disolvente</b>		<b>variable</b>	
	λ <sub>max</sub> (calc'd)	total	

## ESPECTROSCOPIA IR

### Absorciones IR para grupos funcionales representativos

Grupo funcional	Banda <sup>a</sup>	(cm <sup>-1</sup> )
Alcanos	C-H t	2950-2800
	CH <sub>2</sub> d	~1465
	CH <sub>3</sub> d	~1375
	CH <sub>2</sub> d (4 ó más)	~720
Alquenos	=CH t	3100-3010
	C=C t (aislado)	1690-1630
	C=C t (conjugado)	1640-1610
	C-H d (en el plano)	1430-1290
	C-H d (monosustituído)	~990 y ~910
	C-H d (disustituído - E)	~970
	C-H d (disustituído - 1,1)	~890
	C-H d (disustituído - Z)	~700
	C-H d (trisustituído)	~815
Alquinos	C-H t (acetilénico)	~3300
	CC t (triple enlace)	~2150
	C-H d (acetilénico)	650-600
Aromáticos	C-H t	3020-3000
	C=C t	~1600 y ~1475
	C-H d (mono)	770-730 y 715-685
	C-H d (orto)	770-735
	C-H d (meta)	~880 y ~780 y ~690
	C-H d (para)	850-800
Alcoholes	O-H t	~3650 o 3400-3300
	C-O t	1260-1000
Éteres	C-O-C t (dialquil)	1300-1000
	C-O-C t (diaril)	~1250 y ~1120
Aldehídos	C-H t (aldehído)	~2850 y ~2750
	C=O t	~1725
Cetonas	C=O t	~1715
	C-C t	1300-1100
Ácidos carboxílicos	O-H t	3400-2400
	C=O t	1730-1700
	C-O t	1320-1210
	O-H d	1440-1400

Grupo funcional	Banda <sup>a</sup>	(cm <sup>-1</sup> )
Ésteres	C=O t	1750-1735
	C-C(O)-C t (acetatos)	1260-1230
	C-C(O)-C st (el resto)	1210-1160
Cloruros de ácidos	C=O t	1810-1775
	C-Cl st	730-550
Anhídridos	C=O t	1830-1800 y 1775-1740
	C-O t	1300-900
Aminas	N-H t	3500-3300
	N-H d	1640-1500
	C-N t (alquil)	1200-1025
	C-N t (aril)	1360-1250
	N-H d	~800
Amidas	N-H t	3500-3180
	C=O t	1680-1630
	N-H d	1640-1550
	N-H d (1º)	1570-1515
Haluros de alquilo	C-F t	1400-1000
	C-Cl t	785-540
	C-Br t	650-510
	C-I t	600-485
Nitrilos	C,N t (triple enlace)	~2250
Isocianatos	-N=C=O t	~2270
Isotiocianatos	-N=C=S t	~2125
Iminas	R <sub>2</sub> C=N-R t	1690-1640
Grupos nitro	-NO <sub>2</sub> (alifáico)	1600-1530 y 1390-1300
	-NO <sub>2</sub> (aromático)	1550-1490 y 1355-1315
Mercaptanos	S-H t	~2550
Sulfóxidos	S=O t	~1050
Sulfonas	S=O t	~1300 y ~1150
Sulfonatos	S=O t	~1350 y ~11750
	S-O t	1000-750
Fosfinas	P-H t	2320-2270
	PH d	1090-810
Óxidos de fosfina	P=O t	1210-1140

<sup>a</sup> t = vibración de tensión; d = deformación

## RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

<sup>1</sup>H-RMN. Desplazamientos químicos característicos de protones para distintos grupos funcionales

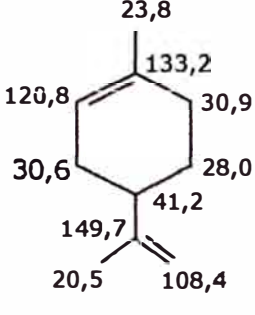
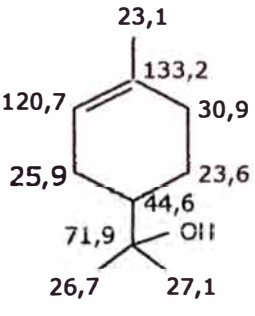
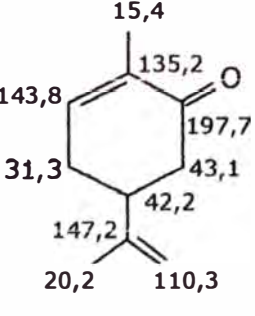
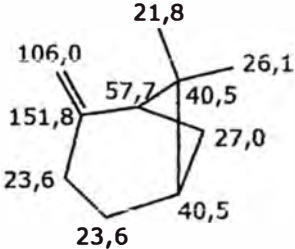
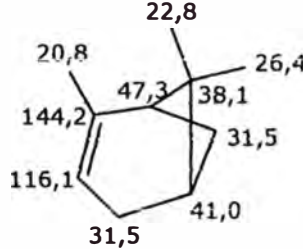
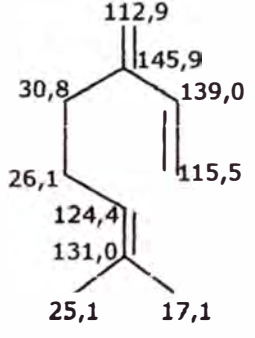
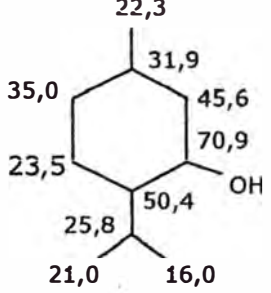
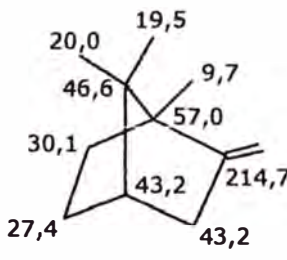
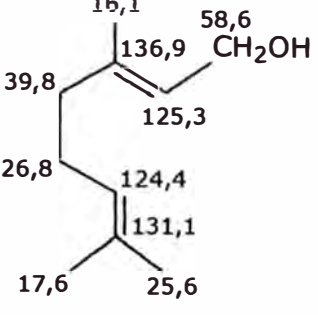
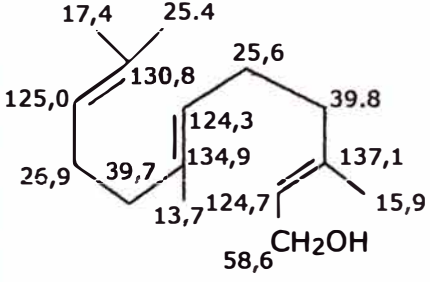
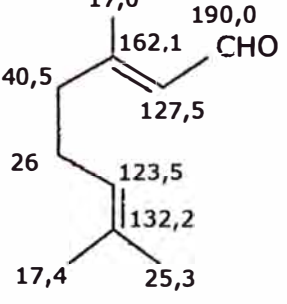
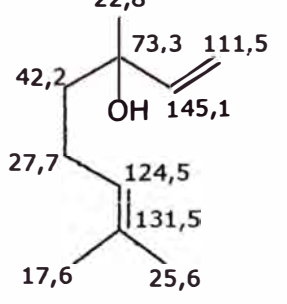
Función	Tipo de protón	Desplazamiento químico (ppm)
Alcanos	ciclopropano	0,2
	R - CH <sub>3</sub>	0,9
acíclico	R - CH <sub>2</sub> - R'	1,3
cíclico	R - CH <sub>2</sub> - R'	1,5
	$\begin{array}{c} \text{R} - \text{CH} - \text{R}' \\   \\ \text{R} \end{array}$	1,5-2,0
Alquenos	= C - H	4,6-5,9
	$\begin{array}{c} = \text{C} - \text{CH}_3 \\   \\ \text{R} \end{array}$	1,8
Alquinos	≡ C - H	2-3
Aromáticos	Ar- H	6-8,5
	Ar-CH <sub>3</sub>	2,3
Haluros de alquilo	-CH <sub>2</sub> - X (X= I,Cl, Br)	3,2-3,5
Alcoholes	C-O-H	1-5
	H-C-OH	3,4-4
Fenoles	Ar-OH	4-4,7
Éteres	-CH <sub>2</sub> -O-	3,3-4
Aldehídos	-CHO	9-10
	H-C-CO	2-2,7
Ácidos carboxílicos	-COOH	10,5-13
Aminas alifáticas	R-NH <sub>2</sub>	1-3
Aminas aromáticas	Ar-NH <sub>2</sub>	3-5
Amidas	RCONHR	5-9



<sup>13</sup>C RMN. Desplazamientos químicos característicos de carbono

Desplaz. químicos relativos al TMS (ppm)	220	200	180	160	140	120	100	80	60	40	20	0	-20
H <sub>3</sub> C-C- primario										■	■		
H <sub>3</sub> C-S-										■	■		
H <sub>3</sub> C-N									■	■			
H <sub>3</sub> C-O-									■				
-H <sub>2</sub> C-C secundario									■	■			
Ciclopropanos											■	■	
-H <sub>2</sub> C-S-									■	■			
-H <sub>2</sub> C-N									■				
-H <sub>2</sub> C-O-								■	■				
-H <sub>2</sub> C-Hal								■	■	■	■		
>CH-C- terciario									■	■			
>CH-S-								■	■				
>CH-N								■	■				
>CH-Hal							■	■	■	■			
C-C cuaternario								■	■	■			
C-S-							■	■					
C-N								■	■				
C-O-							■	■					
C-Hal								■	■	■	■		
Alquinos							■	■					
C=C=C Alenos							■	■					
C=C Alquenos				■	■	■	■						
Aromáticos				■	■	■							
Heterociclo aromáticos				■	■	■							
-S-CN						■							
-N=C=S Isotiocianatos					■								
-O-C≡N				■									
-N≡C=O					■								
-CN					■	■							
-NC			■	■									
>C=N- Azometinos			■	■									
(-CO) <sub>2</sub> O Anhídridos			■	■									
-COOR			■	■									
-CONHR			■	■									
-(CO) <sub>2</sub> NR Imidas			■										
-COOH		■	■										
-COCl			■										
-CHO	■	■	■	■									
>C=O	■	■											

**ANEXO Nº 03**  
**DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE LOS CARBONOS DE VARIOS**  
**MONOTERPENOS Y SESQUITERPENOS**

 <p align="center"><b>Limoneno</b></p>	 <p align="center"><b>Terpineol</b></p>	 <p align="center"><b>Carvona</b></p>
 <p align="center"><b>Beta-Pineno</b></p>	 <p align="center"><b>alfa-Pineno</b></p>	 <p align="center"><b>Mirceno</b></p>
 <p align="center"><b>Mentol</b></p>	 <p align="center"><b>Alcanfor</b></p>	 <p align="center"><b>Geraniol</b></p>
 <p align="center"><b>Farnesol</b></p>	 <p align="center"><b>Trans-Citral</b></p>	 <p align="center"><b>Linalol</b></p>

## ANEXO N° 04

### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

#### A) REACTIVOS UTILIZADOS EN LA MARCHA FOTOQUÍMICA:

**1) Ninhidrina 0,2 %**

Disolver 0,2 g de Ninhidrina en 100 mL de etanol absoluto

**2) Cloruro férrico al 1 %**

Disolver 1,25 g de cloruro férrico en 25 mL de agua destilada y aforar a 50 mL con alcohol metílico.

**3) Reactivo para taninos:**

1 mL de gelatina / 100 mL de H<sub>2</sub>O destilada + 10 mL de NaCl 5%

**4) Reactivo de Shinoda:**

1 mL de muestra más limaduras de Mg / gotas de HCl 36 N

La adición de de HCl depende de la cantidad de flavonoides presentes en la muestra.

**5) Reactivo de Lieberman - Burchard**

1 mg muestra / gotas de ácido acético más 3 mL de anhídrido acético: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50:1)

Todo el sistema debe estar a una temperatura menor a 5 °C porque la reacción es bastante explosiva.

**6) Reactivo de Bornträger:**

1 mL de muestra / benceno + NaOH 5% (solución acuosa)

La mezcla debe agitarse por varios minutos para observar coloración en la fase acuosa.

**7) Reactivo de Dragendorff:**

a) 8 g de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  / 20 mL de  $\text{HNO}_3$

b) 5 g HI / 50 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada

Mezclar (a) con (b). Este reactivo debe utilizarse inmediatamente después de su preparación (con el tiempo se degrada).

**8) Reactivo de Mayer:**

a) 1,36 g de  $\text{HgCl}_2$  / 60 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada

b) 5 g KI / 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada

Mezclar (a) con (b). Este reactivo tiene larga duración (en exceso de ácido se disuelve) el pH de la solución debe ser 3.

**9) Reactivo de Wagner:**

En un matraz volumétrico de 100 mL, disolver 1,27g de yodo (resublimado) y 2 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua; aforar la solución a 100 mL con agua destilada.

**10) Reactivo de Rosenbein**

3 gotas muestra + 2 mL  $\text{H}_2\text{O}$  destilada + 1 mL HCl 12 N / 3 gotas alcohol amílico

**B) REACTIVOS UTILIZADOS EN LAS REACCIONES CARACTERÍSTICAS DE COLORACIÓN:**

**1) Reactivo de Schiff:**

1. En un beaker de 250 mL pesar 100 miligramos de fucsina.
2. Disolver en 75 mL de agua destilada, a 80 grados centígrados.
3. Enfriar.
4. Agregar 2,5 gramos de bisulfito de sodio, disolver.
5. Agregar 1,5 mL de ácido clorhídrico concentrado, agitar.
6. Aforar a 100 mL con agua.
7. NO usar después de 14 días de preparado.

**2) Solución de carbonato de sodio al 5%:**

Se pesan 0,5 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  se disuelve con 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, se trasvasa la solución a una fiola de 10 mL y se completa el volumen con  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.

**3) Reactivo para anillos aromáticos:**

Mezclar en un tubo de ensayo 2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y 2 gotas de HCHO al 37%.

**4) Reactivo de Tollens:**

Mezclar en un tubo de ensayo 2 mL de  $\text{AgNO}_3$  al 5% 1 gota de NaOH al 10%. Poco a poco antes de utilizar el reactivo agregar  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 20% hasta que la solución aclare.

**5) Reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina:**

Pesar 3 g de 2,4-DNFH y agregar 15 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Agregar sobre 20 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada y 70 mL de etanol 95%. Filtrar.

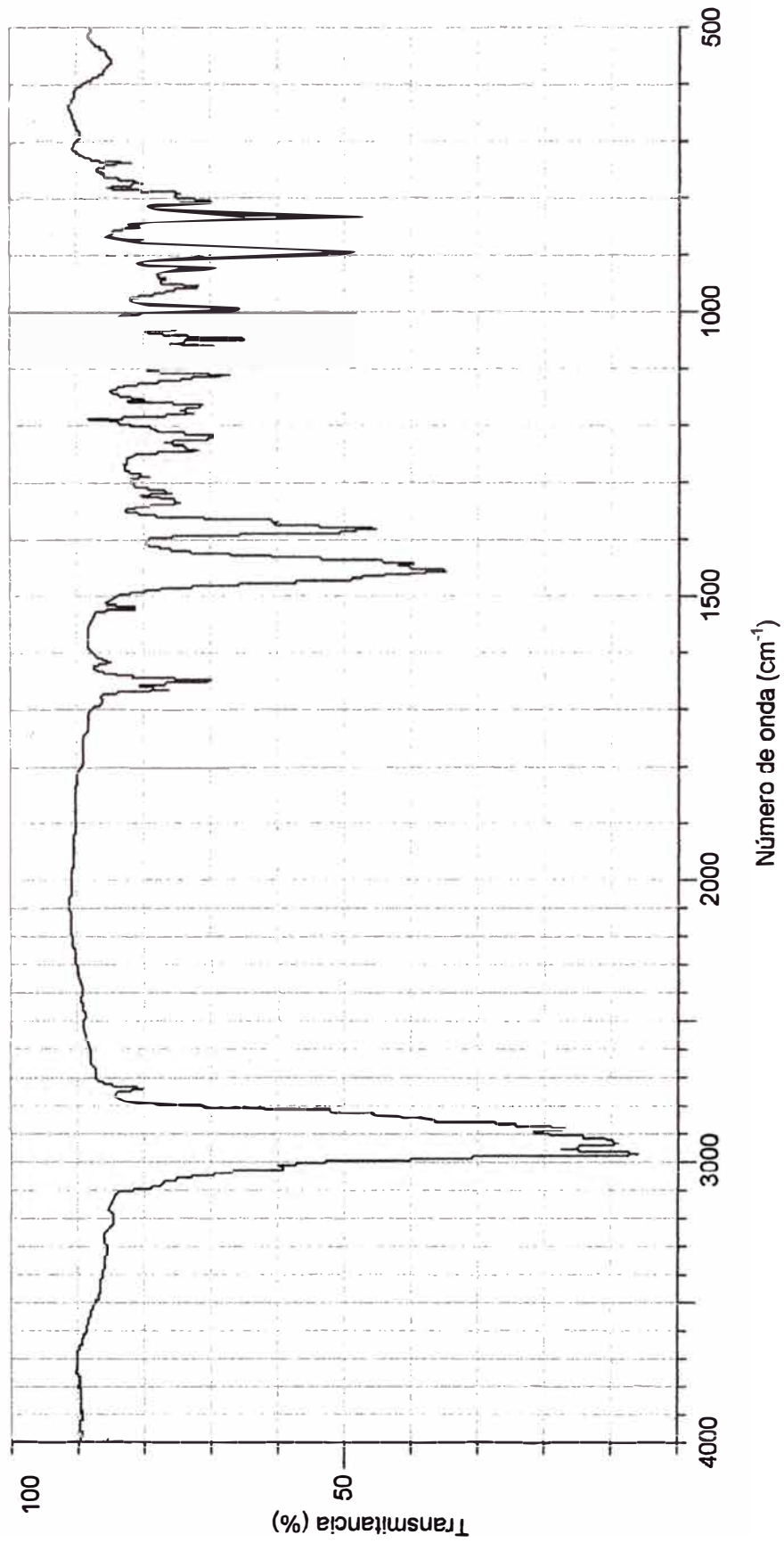
ANEXO Nº 05

ESPECTRO IR DE LOS COMPUESTOS "X1" Y "X2"

COMPONENTES VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA

Espectro IR del componente "X1"

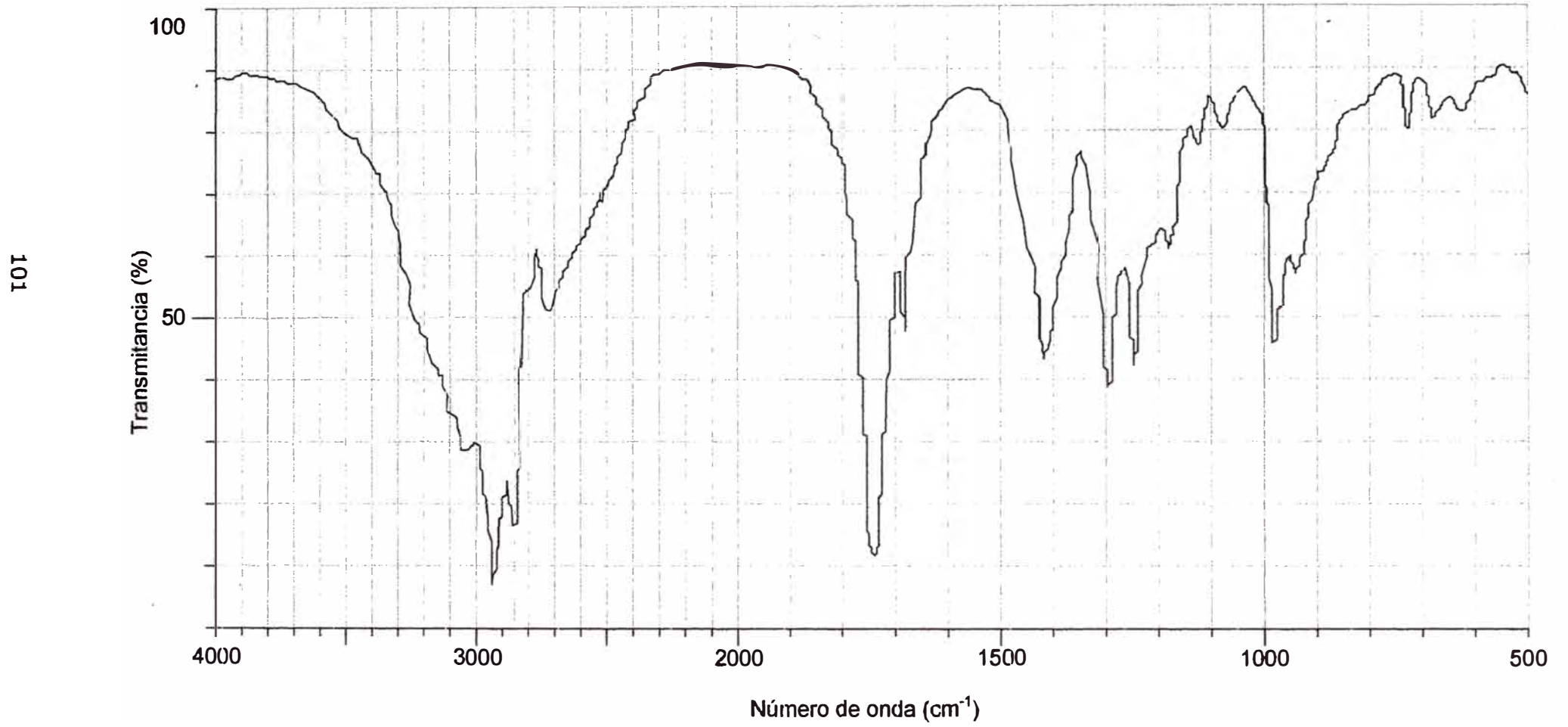
Fracción disuelta en n-hexano



# COMPONENTES VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA

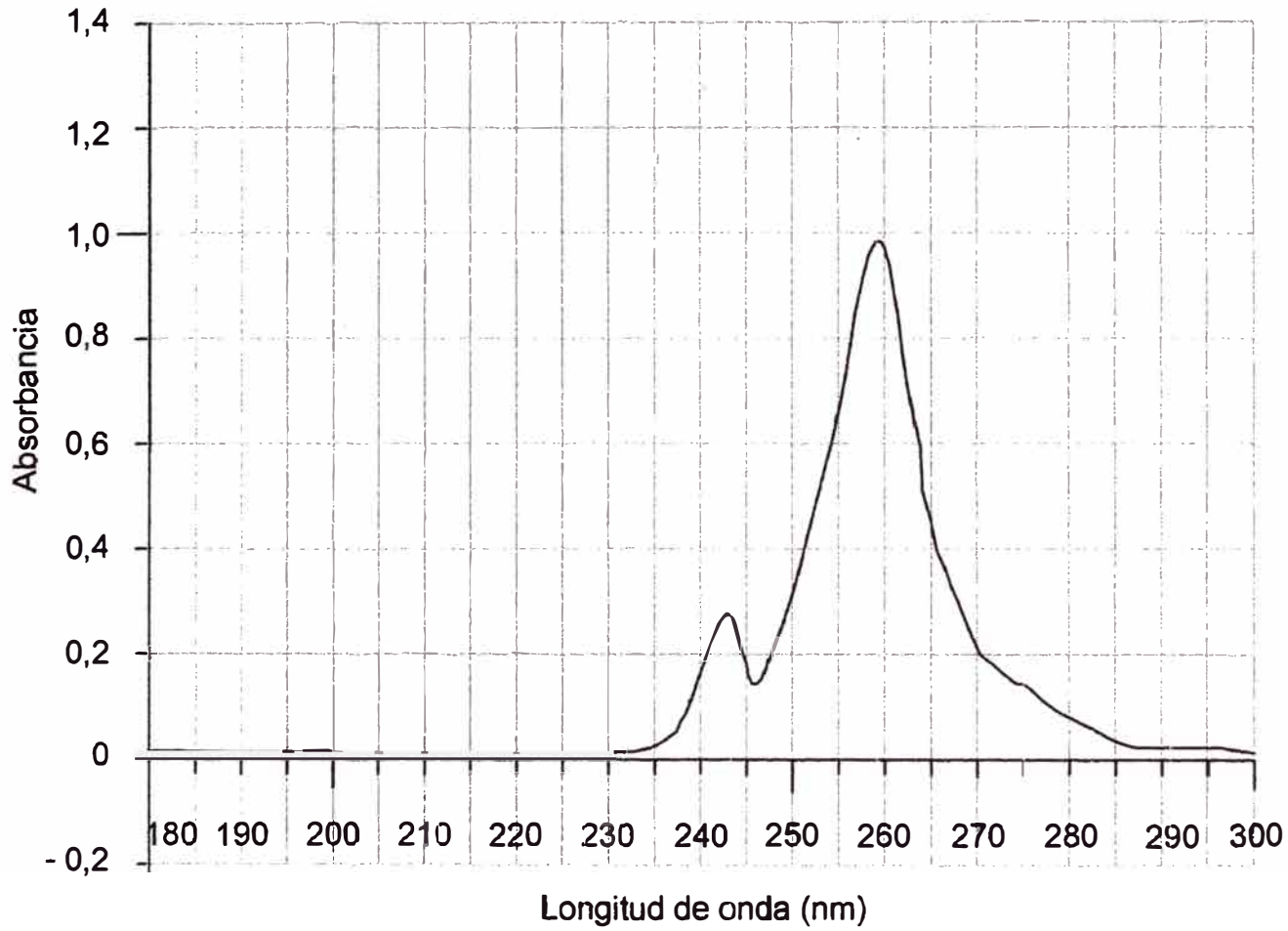
Espectro IR del Componente "X2"

Fracción disuelta en n-hexano



## COMPONENTES VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA

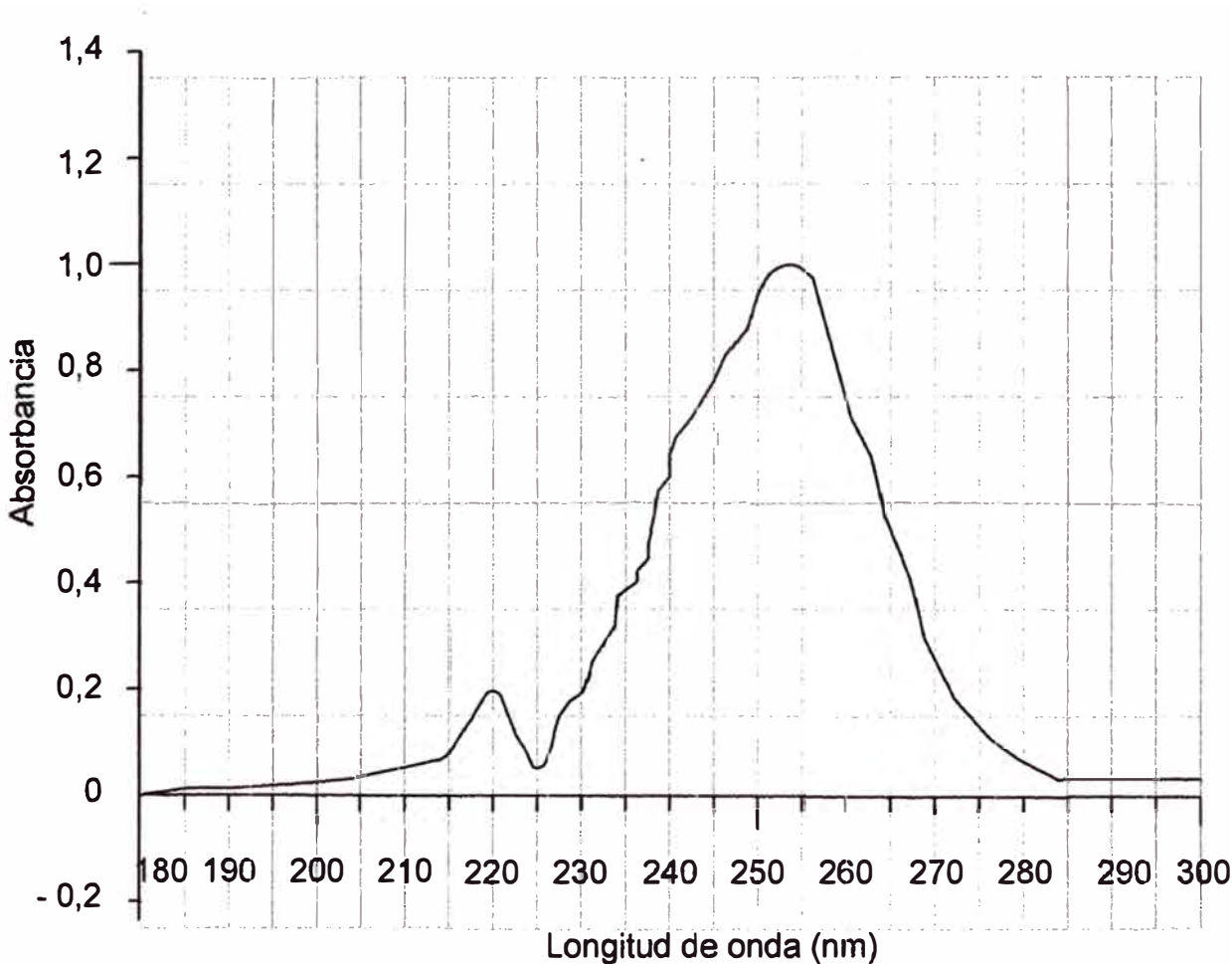
Espectro UV del Componente X1 del aceite esencial de citrus aurantifolia (Christm.) Swingle  
Diluida en n-hexano





**COMPONENTES VOLÁTILES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA**

**Espectro UV del Componente X2 del aceite esencial de citrus aurantifolia (Christm.) Swingle  
Diluida en n-hexano**

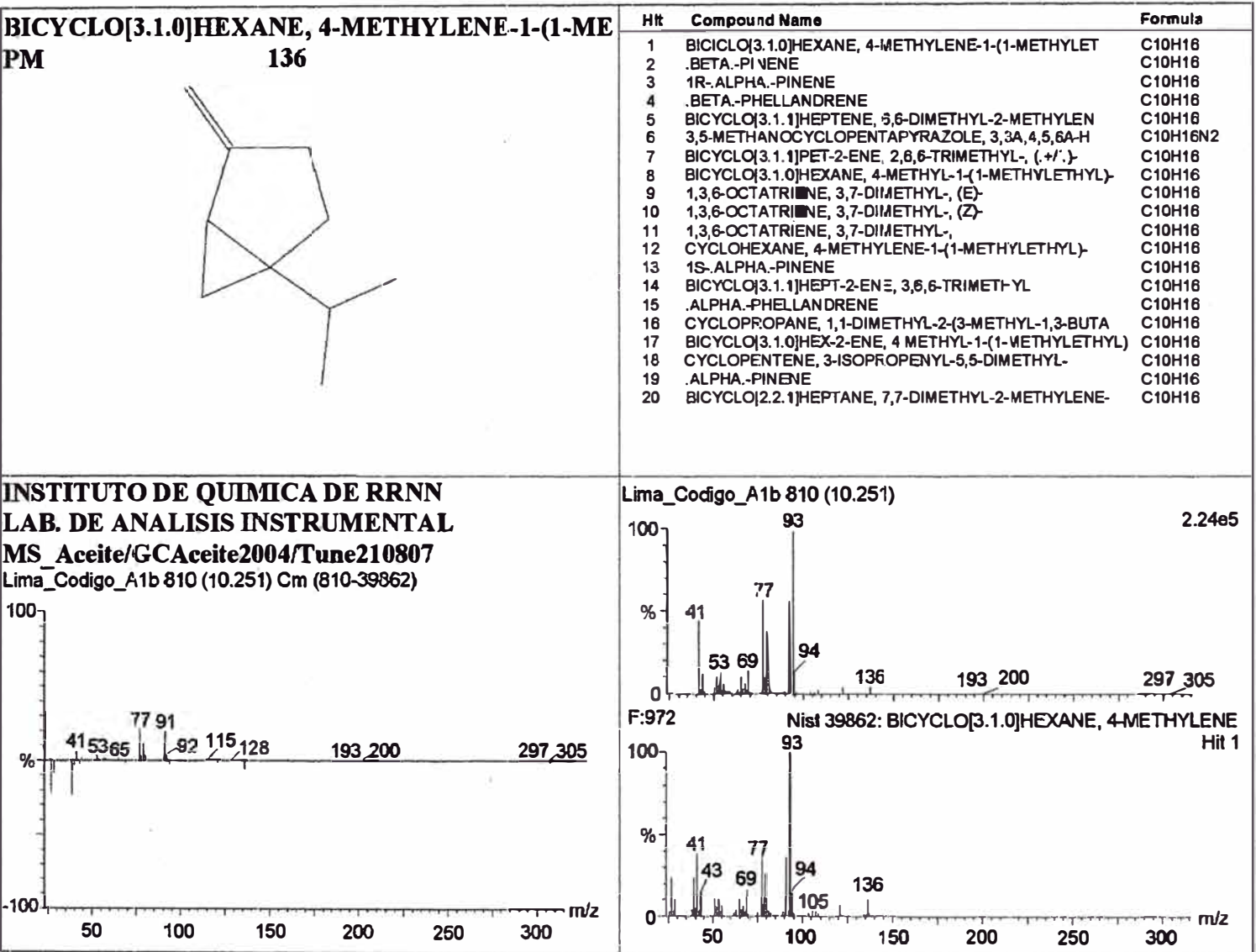


ESPECTRO DE MASAS DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE  
ESENCIAL DE LIMA

Componente 01: 4-METILEN-1-(1-METILETIL)BICICLO[3,1,0]HEXANO

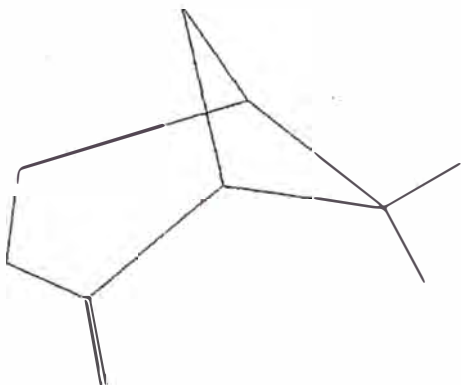
Sinónimo: α-Tuyeno

Fórmula Molecular: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>; Peso Molecular: 136



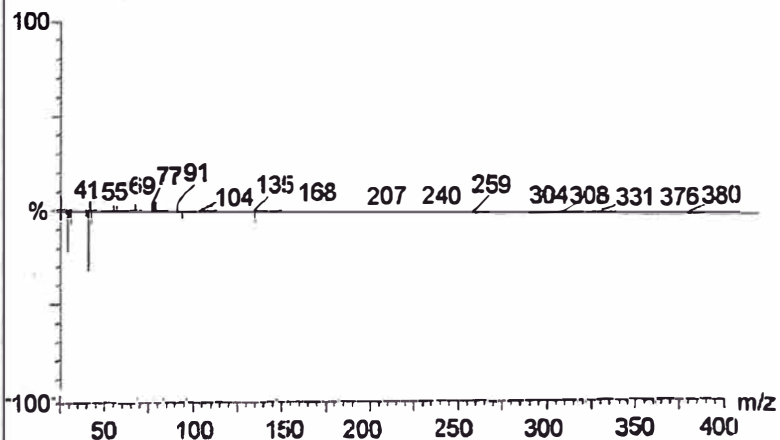
**.BETA.-PINENE**  
**PM**

136



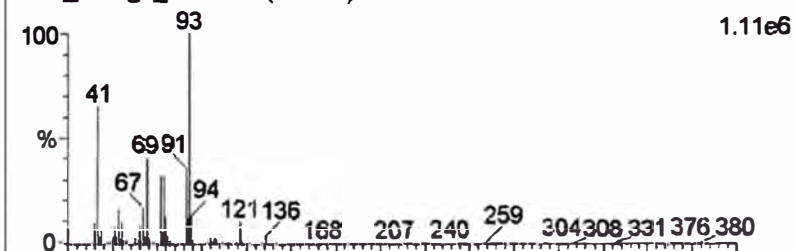
Hit	Compound Name	Formula
1	.BETA.-PINENE	C10H16
2	EICYCLO[3.1.1]HEPTENE, 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENE -,	C10H16
3	EICYCLO[3.1.0]HEXANE, 4-METHYLENE-1-(1-METHYLET	C10H16
4	.BETA.-MYRCENE	C10H16
5	3,5-METHANOCYCLOPENTAPYRAZOLE, 3,3A,4,5,6A-HE	C10H16N2
6	CYCLOHEXANE, 1-METHYLENE-4-(1-METHYLETHYL)-	C10H16
7	EICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2,2-DIMETHYL-3-METHYLENE-,	C10H16
8	EICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 7,7-DIMETHYL-2-METHYLENE-,	C10H16
9	1R-.ALPHA.-PINENE	C10H16
10	1S-.ALPHA.-PINENE	C10H16
11	CYCLOHEXANE, 4-METHYLENE-1-(1-METHYLETHYL)-	C10H16
12	CAMPHENE	C10H16
13	TRICYCLO[2.2.1.0(2,6)]HEPTANE, 1,3,3-TRIMETHYL-	C10H16
14	EUTANOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ESTER	C14H24O2
15	EICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 3,6,8-TRIMETHYL	C10H16
16	GERANYL BROMIDE	C10H17Br
17	.BETA.-PHELLANDRENE	C10H16
18	EICYCLO[3.1.0]HEX-2-ENE, 4-METHYL-1-(1-METHYLETHYL	C10H16
19	4-CARENE	C10H16
20	.ALPHA.-PINENE	C10H16

INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b 838 (10.484) Cm (838-39850)



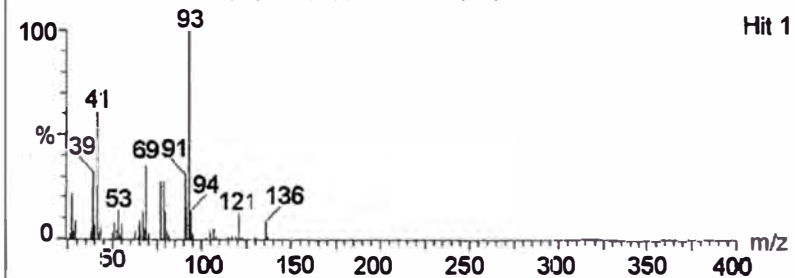
Lima\_Codigo\_A1b 838 (10.484)

1.11e6



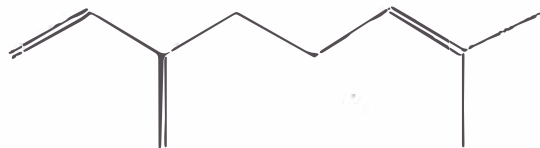
F:971 Nist 39850: .BETA.-PINENE

Hit 1



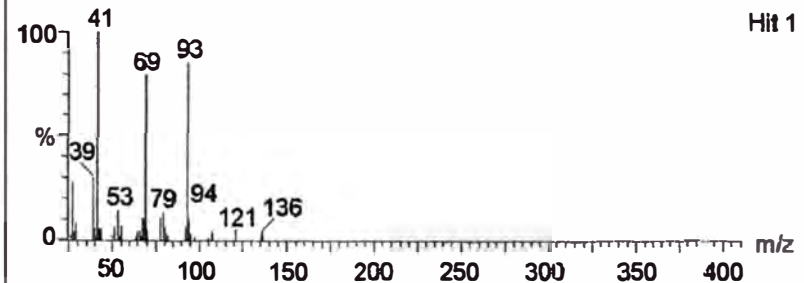
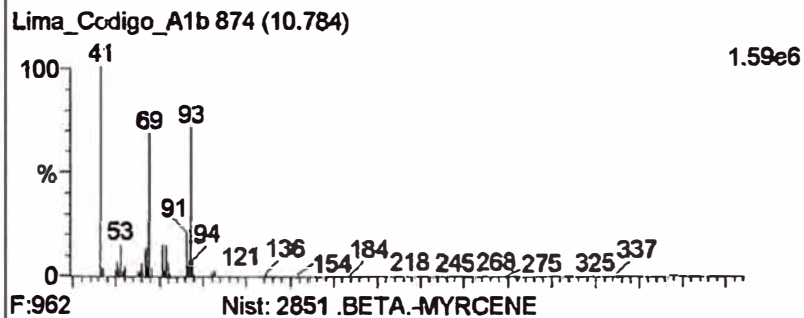
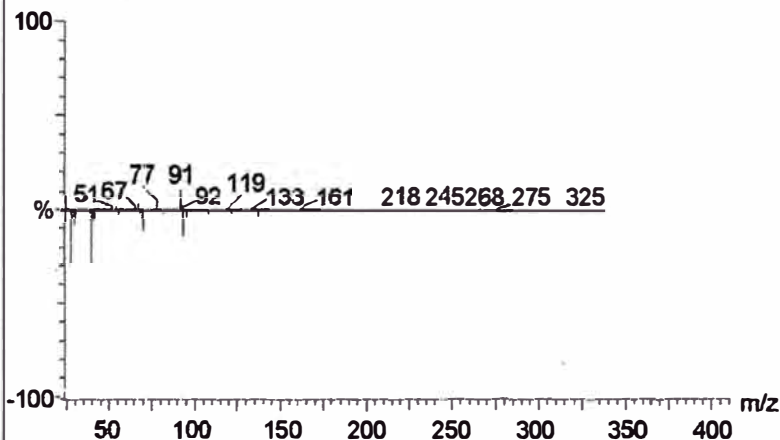
**.BETA.-MYRCENE**  
**PM**

**136**



Hit	Compound Name	Formula
1	.BETA.-MYRCENE	C1CH16
2	GERANYL BROMIDE	C1CH17Br
3	EICYCLO[3.1.1]HEPTENE, 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENE-	C1CH16
4	CYCLOPROPANE, 1,1-DIMETHYL-2-(2,4-PENTADIENYL)-	C1CH16
5	5-HEPTEN-1-YNE, 6-METHYL	C8H12
6	1,6,10-DODECATRIENE, 7,11-DIMETHYL-3-METHYLENE	C15H24
7	CYCLOHEXANE, 1-METHYLENE-4-(1-METHYLETHYL)-	C1CH16
8	1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHYL	C12H20
9	SPIRO[6,6-DIMETHYL-2,3-DIAZO BICYCLO[3.1.0]HEX-2-	C8H12N2
10	1,6,10-DODECATRIENE, 7,11-DIMETHYL-3-METHYLENE	C15H24
11	4-(4-METHYLPENT-3-ENYL)-3,6-DIHYDRO-1,2-DITHIIN	C1CH16S2
12	1,6,10-DODECATRIENE, 7,11-DIMETHYL-3-METHYLENE-	C15H24
13	SANTOLINA TRIENE	C1CH16
14	1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIMETHYL-, (Z,E)-	C15H24
15	1,7-OCTADIEN-3-ONE, 2-METHYL-6-METHYLENE-	C1CH14O
16	2,3-DIAZABICYCLO[2.2.1]HEPT-2-ENE, 5-ETHENYL-4,7,7-	C1CH16N2
17	1-DODECEN-3-YNE	C12H20
18	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C1CH16
19	1H-3A,7-METHANOAZULENE, OCTAHYDRO-1-4-9-9-TETR	C15H26
20	CIS,CIS-4,6-OCTADIENOL	C8H14O

**INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN**  
**LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL**  
**MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807**  
Lima\_Codigo\_A1b 874 (10.784) Cm (874-2851)



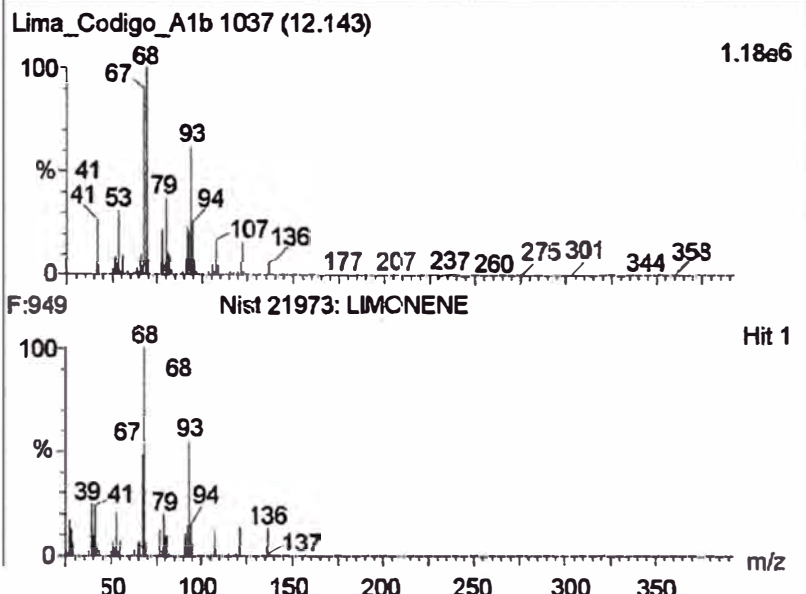
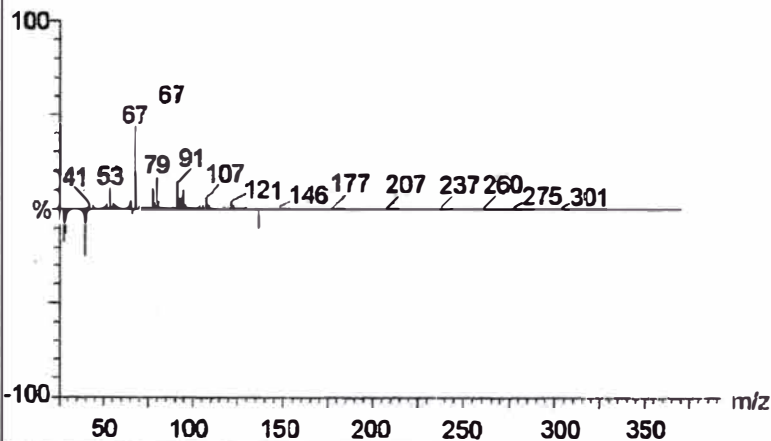
**LIMONENE**  
**PM**

**136**



Hit	Compound Name	Formula
1	LIMONENE	C10H16
2	CYCLOBUTANE, 1,2-BIS(METHYLETHENYL), TRANS-	C10H16
3	CYCLOHEXENE, 1-METHYLENE-4-(1-METHYLETHENYL)-	C10H16
4	CYCLOBUTANE, 1,3-DIISOPROPENYL-, TRANS	C10H16
5	D-LIMONENE	C10H16
6	CYCLOHEXENE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C10H16
7	CYCLOHEXENE, 4-ETHENYL-1,4-DIMETHYL	C10H16
8	CYCLOHEXENE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL), (R	C10H16
9	1,5-CYCLOOCTADIENE, 1,5-DIMETHYL	C10H16
10	1,7-OCTADIENE, 2-METHYL-6-METHYLENE-	C10H16
11	CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)- (+	C10H16
12	1,5-CYCLOOCTADIENE, 3,4-DIMETHYL-	C10H16
13	CAMPHENE	C10H16
14	1-CYCLOPENTYLCYCLOPENTENE	C10H16
15	CYCLOHEPTENE, 5-ETHYLIDENE-1-METHYL-	C10H16
16	ISOLIMONENE	C10H16
17	BICYCLOPENTYLIDENE	C10H16
18	CYCLOHEXANE, CYCLOPROPYLIDENE	C10H16
19	7-PROPYLIDENE-BICYCLO[4.1.0]-HEPTANE	C10H16
20	SPIRO[2,4]HEPTANE, 1,5-DIMETHYL-6-METHYLENE-	C10H16

**INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN**  
**LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL**  
**MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807**  
Lima\_Codigo\_A1b 1037 (12.143) Cm (1037-2173)

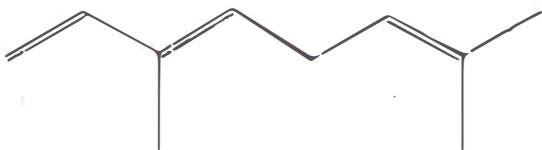


Componente 05: 3,7-DIMETIL-1,3,6-OCTATRIENO

Sinónimo: Cis-β-Ocimeno

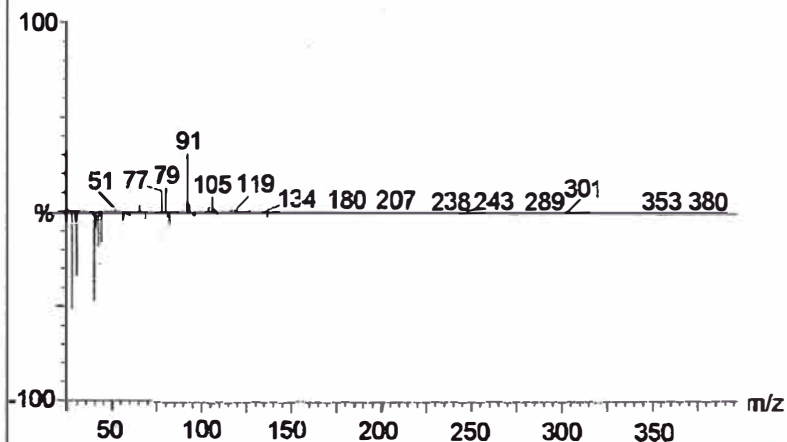
Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>; Peso Molecular: 136

1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (Z)  
PM 136

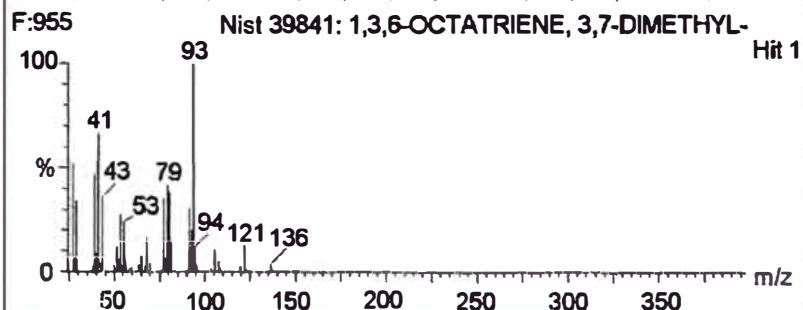
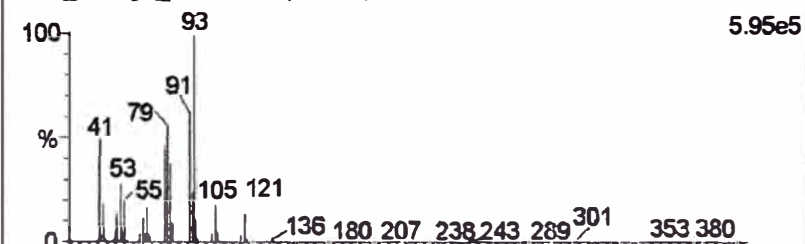


Hit	Compound Name	Formula
1	1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (Z)-	C10H16
2	1,3,7-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-	C10H16
3	1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-	C10H16
4	1R-.ALPHA.-PINENE	C10H16
5	SANTOLINA TRIENE	C10H16
6	BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6,6-TRIMETHYL-, (+/-)-	C10H16
7	3,5-METHANOCYCLOPENTAPYRAZOLE, 3,3A,4,5,6,6A-H	C10H16N2
8	.ALPHA.-PINENE	C10H16
9	1S-.ALPHA.-PINENE	C10H16
10	CYCLOPROPANE, 1,1-DIMETHYL-2-(3-METHYL-1,3-BUT	C10H16
11	CYCLOPENTENE, 3-ISOPROPENYL-5,5-DIMETHYL-	C10H16
12	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2,2-DIMETHYL-3-METHYLENE-	C10H16
13	BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 3,6,6-TRIMETHYL-	C10H16
14	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 7,7-DIMETHYL-2-METHYL-	C10H16
15	TRICYCLO[2.2.1.0(2,6)]HEPTANE, 1,7,7-TRIMETHYL-	C10H16
16	OCIMENE	C10H16
17	.BETA.-PINENE	C10H16
18	4-CARENE	C10H16
19	3-OCTEN-5-YNE, 2,7-DIMETHYL-, (E)-	C10H16
20	4-CARENE, (1S,3S,6R)-(-)	C10H16

INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b 1104 (12.701) Cm (1104-39841)



Lima\_Codigo\_A1b 1104 (12.701)



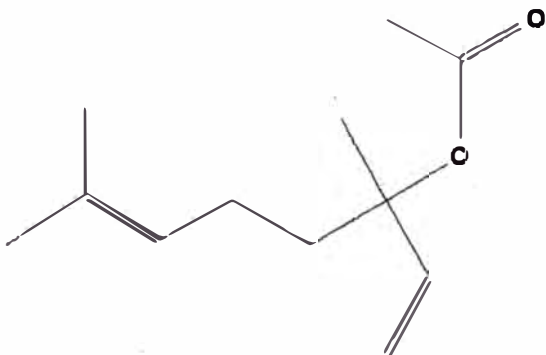
Componente 06:

ACETATO DE 3,7-DIMETIL-1,6-OCTADIEN-3-IL

Sinónimo: Acetato de linalilo (Enantiómero 1)

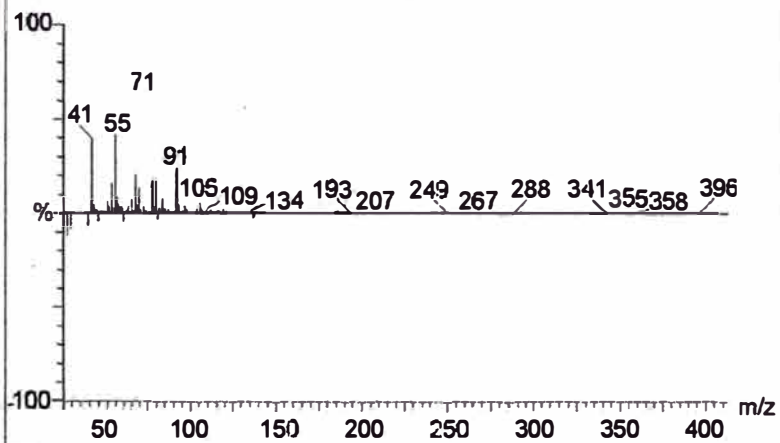
Fórmula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>; Peso Molecular: 196

**1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE  
PM 196**

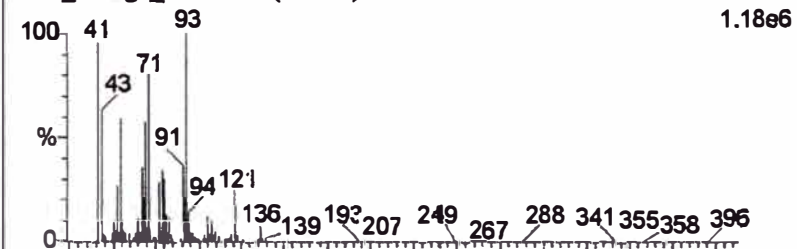


Hit	Compound	Formula
1	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-2-AMINOBENZOAT	C17H23O2N
2	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE	C12H20O2
3	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-	C10H18O
4	BUTANOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ESTER	C14H24O2
5	LINALYL BUTYRATE	C14H24O2
6	1,6,10-DODECATRIEN-3-OL, 3,7,11-TRIMETHYL-	C15H26O
7	LINALYL ISOBUTYRATE	C14H24O2
8	BICYCLO[3.1.0]HEXAN-2-OL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETH	C10H18O
9	CIS-SABINENEHYDRATE	C10H18O
10	TERPINEOL, Z.-BETA-	C10H18O
11	2,6-OCTADIEN-1-OL, 2,7-DINETHYL-	C10H18O
12	BENZENE, I[(1-ETHENYL-1,5-DIMETHYL-4-HEXENYL)OXY	C17H24O
13	1,2-DIHYDROPYRIDINE, 1-(1-OXOBUTYL)-	C9H13ON
14	CYCLOHEXANOL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-, (1,	C10H18O
15	LINALYL PHENYLACETATE	C18H24O2
16	1,6,10-DODECATRIEN-3-OL, 3,7,11-TRIMETHYL-, (E)-	C15H26O
17	BICYCLO[3.1.0]HEXAN-3-OL, 4-METHYL-1-(1-METHYLETH	C10H18O
18	CYCLOHEXANOL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C10H18O
19	BICYCLO[3.1.0]HEXAN-2-OL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETH	C10H18O
20	BICYCLO[4.1.0]HEPTAN-3-OL, 4,7,7-TRIMETHYL-, (1.ALPH	C10H18O

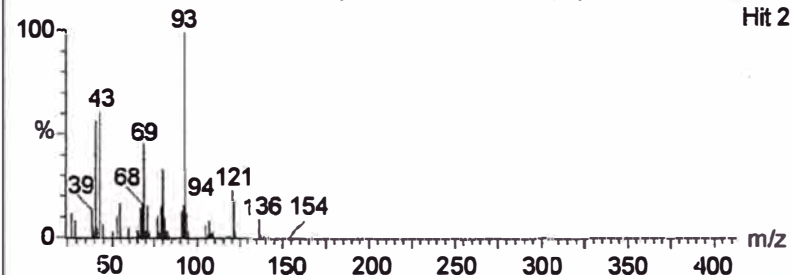
INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b 1338 (14.651) Cm (1338-39880)



Lima\_Codigo\_A1b 1338 (14.651)



F:887 Nist 39880: 1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-, AC Hit 2

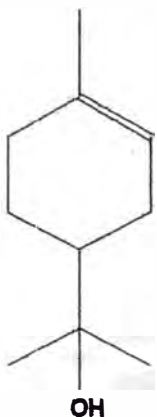


**Componente 07: (+)- $\alpha$ -TERPINEOL**

Sinónimo: (p-ment-1-en-8-ol)

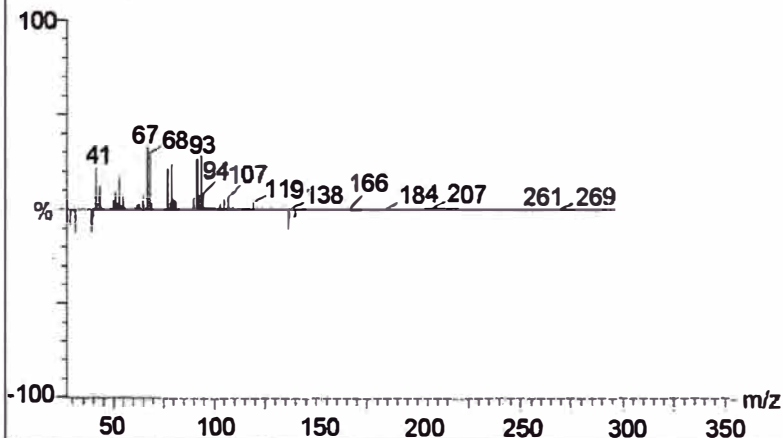
Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O; Peso Molecular: 154

**(+)-.ALPHA.-TERPINEOL (P-MENTH-1-EN-8-OL)  
PM 154**

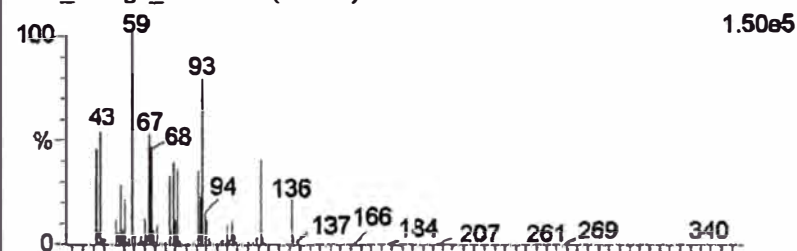


Hit	Compound Name	Formula
1	(+)-.ALPHA.-TERPINEOL (P-MENTH-1-EN-O-OL)	C10H18O
2	3-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, .ALPHA.,.ALPHA.,.4-TRI	C10H18O
3	3-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, .ALPHA.,.ALPHA.,.4-TRI	C10H18O
4	5,7-OCTADIEN-2-OL, 2,6-DIMETHYL-	C10H18O
5	7-OCTEN-2-OL, 2-METHYL-6-METHYLENE-	C10H18O
6	3-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, .ALPHA.,.ALPHA.,.4-TRI	C10H18O
7	BICYCLO[4.1.0]HEPTANE, 7-(1-METHYLETHYLIDENE)-	C10H16
8	CYCLOHEPTANE, 5-ETHYLIDENE-1-METHYL-	C10H16
9	CYCLOHEXENE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-	C10H16
10	CYCLOHEXENE, 3-METHYL-6-(1-METHYLETHENYL)-, )3R	C10H16
11	CAMPHERE	C10H16
12	ISOLIMONENE	C10H16
13	2-HEXENOIC ACID, 6-(2-METHYLENECYCLOPRCPYL)-, M	C11H16O2
14	CYCLOHEXENE, 5-METHYL-3-(1-METHYLETHENYL)-, TR	C10H16
15	D-LIMONENE	C10H16
16	CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (S)-	C10H16
17	BICYCLO[3.1.0]HEXANE, 6-ISOPROPYLIDENE-1-METHYL-	C10H16
18	CYCLOHEXANOL, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, A	C12H20O2
19	CYCLOHEXANE, 1-BUTENYLIDENE-	C10H16
20	LIMONENE	C10H16

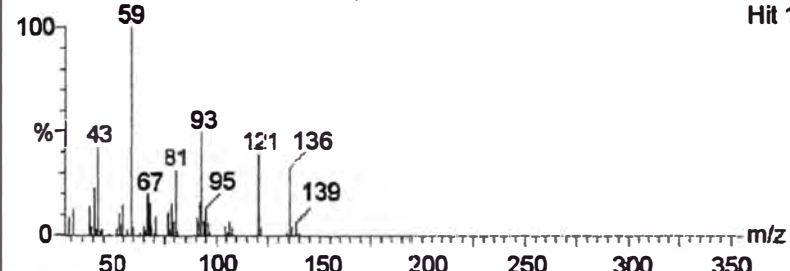
INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b 1775 (17.793) Cm (1775-19782)



Lima\_Codigo\_A1b 1715 (17.793)



F:924 Nist 19782: (+)-.ALPHA.-TERPINEOL (P-MENTH-1-EN-8-OL) Hit 1



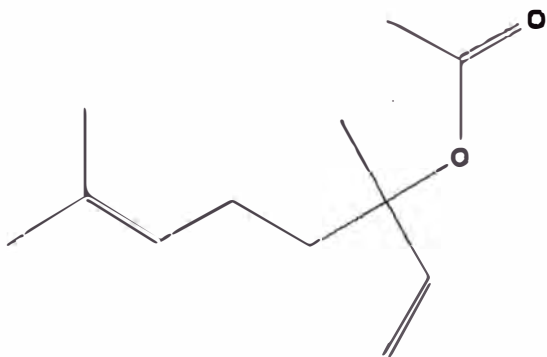


Componente 08: Acetato de 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ilo

Sinónimo: Acetato de linalilo (Enantiómero 2)

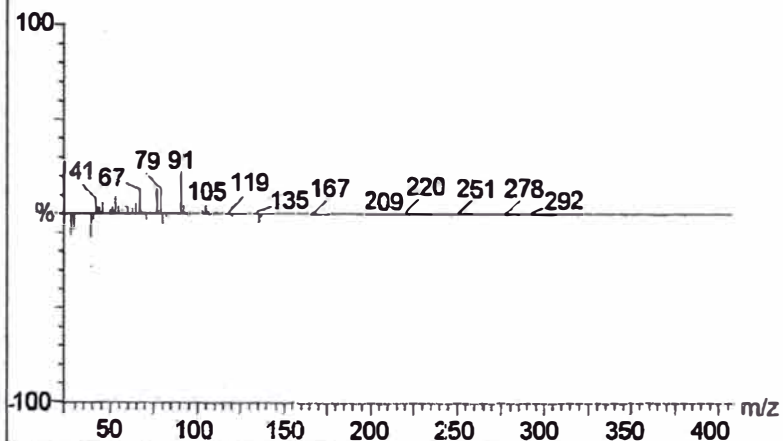
Fórmula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>; Peso Molecular: 196

**1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE  
PM 196**

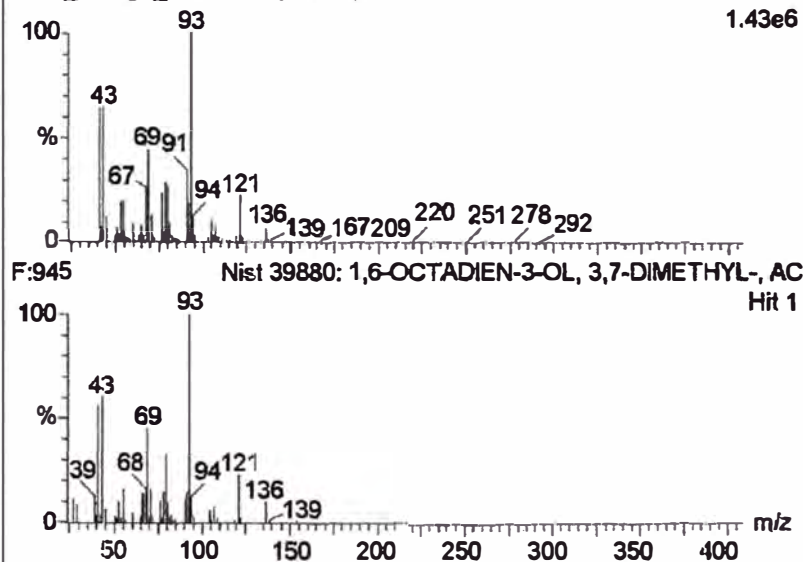


Hit	Compound Name	Formula
1	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,6-DIMETHYL-, ACETATE	C12H20O2
2	EUTANOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ESTER	C14H24O2
3	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-, 2- AMINOENZOAT	C17H23O2
4	LINALYL BUTYRATE	C14H24O2
5	1,3,7-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-	C10H16
6	.BETA.-PINENE	C10H16
7	4-CARENE	C10H16
8	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENE-	C10H16
9	1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (Z)-	C10H16
10	OCIMENE	C10H16
11	1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (E)-	C10H16
12	BICYCLO[3.1.0]HEXAN-2-OL, 2-METHYL-5-(1-METHYLET	C10H18O
13	SANTOLINA TRIENE	C10H16
14	GERANYL BROMIDE	C10H17Br
15	3,5-METHANOCYCLOPENTAPYRAZOLE, 3,3A,4,5,6,6A-H	C10H16N2
16	BENZENE, [(1-ETHENYL-1,5-DIMETHYL-4-HEXENYL)OXY	C10H16N2
17	LINALYL ISOBURRYRATE	C14H24O2
18	BICYCLO[3.1.0]HEXANE, 4-METHYLENE-1-(1-METHYLET	C10H16
19	CYCLOPROPANE, 1,1-DIMETHYL-2-(3-METHYL-1,3-BUTA	C10H16
20	2,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE, (Z)-	C12H20O2

INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b 1875 (19.127) Cm (1875-39880)


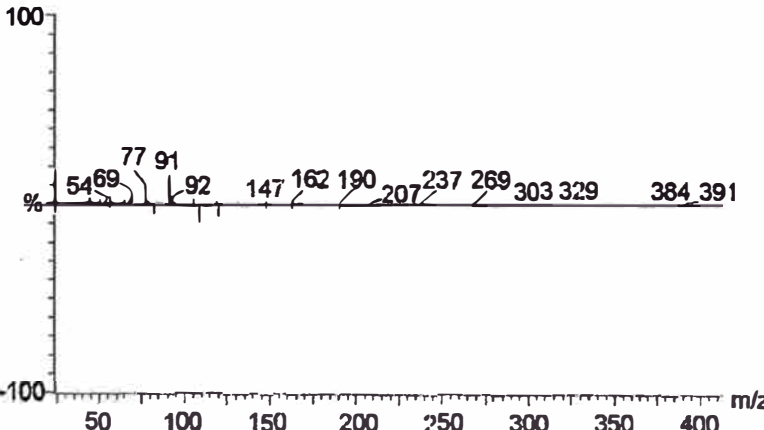
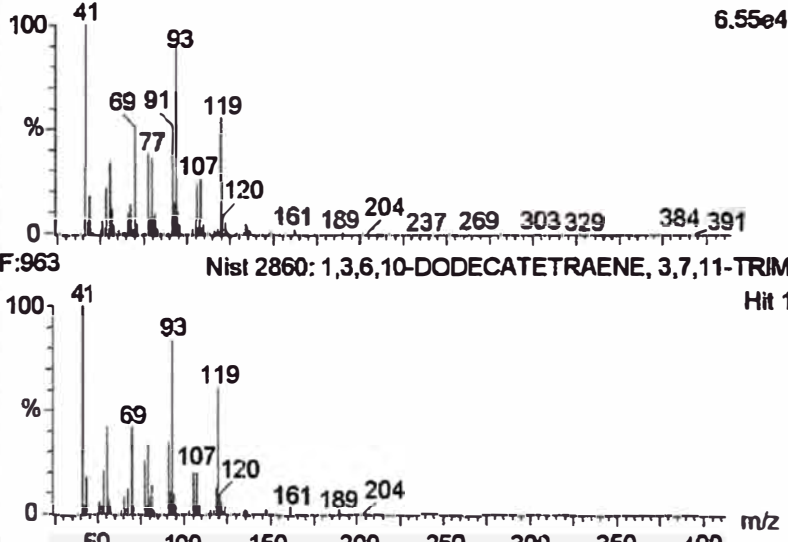


Lima\_Codigo\_A1b 1875 (19.127)



Sinónimo: Cis-β-farneseno

Fórmula: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>; Peso Molecular: 136

<p><b>1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIMETHYL-, (Z,E)</b> <b>PM</b></p> <p style="text-align: center;"><b>204</b></p> 	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Hit</th> <th>Compound Name</th> <th>Formula</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIMETHYL-, (Z,E)</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>2</td><td>BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETHYL-6-(4-METHYL</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>3</td><td>.ALPHA.-FARNESENE</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>4</td><td>BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6-METHYL-2-METHYLENE-6-(4-</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>5</td><td>BERGAMOTOL, Z-.ALPHA.-TRANS-</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O</td></tr> <tr><td>6</td><td>1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHY</td><td>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub></td></tr> <tr><td>7</td><td>BICYCLO[7.2.0]UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-MET</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>8</td><td>(E,E,E)-3,7,11,15-TETRAMETHYLHEXADECA-1,3,6,10,14-P</td><td>C<sub>20</sub>H<sub>32</sub></td></tr> <tr><td>9</td><td>1,3-PENTADIENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2,4-</td><td>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub></td></tr> <tr><td>10</td><td>1,4-METHANOCYCLOOCTA[D]PYRIDAZINE, 1,4,4A,5,6,9,1</td><td>C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub></td></tr> <tr><td>11</td><td>BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2-CYCLOPROPILIDENE-1,7,7-</td><td>C<sub>13</sub>H<sub>20</sub></td></tr> <tr><td>12</td><td>CARYOPHYLLENE OXIDE</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O</td></tr> <tr><td>13</td><td>CARYOPHYLLENE</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>14</td><td>TRICYCLO[7.2.0.0(3,8)]UNDEC-4-ENE, 4,8,11,11-TETRAM</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>15</td><td>BICYCLO[8.2.0]DODECA-3,7-DIENE, 11,11-DIMETHYL-</td><td>C<sub>14</sub>H<sub>22</sub></td></tr> <tr><td>16</td><td>10,10-DIMETHYL-N-PHENYL-3,4-DIAZATRICYCLO[5.2.1.0(</td><td>C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub></td></tr> <tr><td>17</td><td>1,7-OCTADIENE, 2,7-DIMETHYL-3,6-BIS(METHYLENE)-</td><td>C<sub>12</sub>H<sub>18</sub></td></tr> <tr><td>18</td><td>BICYCLO[4.1.0]-3-HEPTENE, 2-ISOPROPENYL-5-ISOPRO</td><td>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></td></tr> <tr><td>19</td><td>(+)-3-CARENE,2-(ACETYLMETHYL)-</td><td>C<sub>13</sub>H<sub>20</sub></td></tr> <tr><td>20</td><td>(+)-3-CARENE, 2-(ACETYLMETHYL)-</td><td>C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O</td></tr> </tbody> </table>	Hit	Compound Name	Formula	1	1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIMETHYL-, (Z,E)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2	BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETHYL-6-(4-METHYL	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3	.ALPHA.-FARNESENE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	4	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6-METHYL-2-METHYLENE-6-(4-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5	BERGAMOTOL, Z-.ALPHA.-TRANS-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	6	1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHY	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>	7	BICYCLO[7.2.0]UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-MET	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	8	(E,E,E)-3,7,11,15-TETRAMETHYLHEXADECA-1,3,6,10,14-P	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	9	1,3-PENTADIENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2,4-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>	10	1,4-METHANOCYCLOOCTA[D]PYRIDAZINE, 1,4,4A,5,6,9,1	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub>	11	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2-CYCLOPROPILIDENE-1,7,7-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	12	CARYOPHYLLENE OXIDE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	13	CARYOPHYLLENE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	14	TRICYCLO[7.2.0.0(3,8)]UNDEC-4-ENE, 4,8,11,11-TETRAM	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	15	BICYCLO[8.2.0]DODECA-3,7-DIENE, 11,11-DIMETHYL-	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>	16	10,10-DIMETHYL-N-PHENYL-3,4-DIAZATRICYCLO[5.2.1.0(	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	17	1,7-OCTADIENE, 2,7-DIMETHYL-3,6-BIS(METHYLENE)-	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub>	18	BICYCLO[4.1.0]-3-HEPTENE, 2-ISOPROPENYL-5-ISOPRO	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	19	(+)-3-CARENE,2-(ACETYLMETHYL)-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	20	(+)-3-CARENE, 2-(ACETYLMETHYL)-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O
Hit	Compound Name	Formula																																																														
1	1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIMETHYL-, (Z,E)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
2	BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETHYL-6-(4-METHYL	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
3	.ALPHA.-FARNESENE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
4	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6-METHYL-2-METHYLENE-6-(4-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
5	BERGAMOTOL, Z-.ALPHA.-TRANS-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O																																																														
6	1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHY	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>																																																														
7	BICYCLO[7.2.0]UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-MET	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
8	(E,E,E)-3,7,11,15-TETRAMETHYLHEXADECA-1,3,6,10,14-P	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>																																																														
9	1,3-PENTADIENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2,4-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>																																																														
10	1,4-METHANOCYCLOOCTA[D]PYRIDAZINE, 1,4,4A,5,6,9,1	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub>																																																														
11	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2-CYCLOPROPILIDENE-1,7,7-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>																																																														
12	CARYOPHYLLENE OXIDE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O																																																														
13	CARYOPHYLLENE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
14	TRICYCLO[7.2.0.0(3,8)]UNDEC-4-ENE, 4,8,11,11-TETRAM	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
15	BICYCLO[8.2.0]DODECA-3,7-DIENE, 11,11-DIMETHYL-	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>																																																														
16	10,10-DIMETHYL-N-PHENYL-3,4-DIAZATRICYCLO[5.2.1.0(	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>																																																														
17	1,7-OCTADIENE, 2,7-DIMETHYL-3,6-BIS(METHYLENE)-	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub>																																																														
18	BICYCLO[4.1.0]-3-HEPTENE, 2-ISOPROPENYL-5-ISOPRO	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>																																																														
19	(+)-3-CARENE,2-(ACETYLMETHYL)-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>																																																														
20	(+)-3-CARENE, 2-(ACETYLMETHYL)-	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O																																																														
<p><b>INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN</b> <b>LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL</b> <b>MS_Aceite/GCAceite2004/Tune210807</b> Lima_Codigo_A1b 2502 (24.352) Cm (2502-2860)</p> 	<p>Lima_Codigo_A1b 2502 (24.352) <span style="float: right;">6.55e4</span></p>  <p>F:963 Nist 2860: 1,3,6,10-DODECATETRAENE, 3,7,11-TRIM Hit 1</p>																																																															

Componente 10: 5-(2,2-DIMETILCICLOPROPIL)-2-METIL-4-METENIL-1-

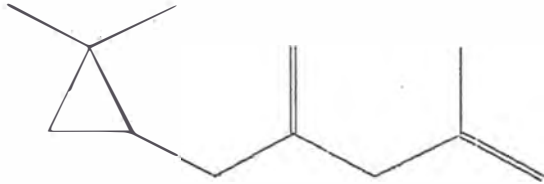
PENTENO

Fórmula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub> ; Peso Molecular: 164

1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHYL-

PM

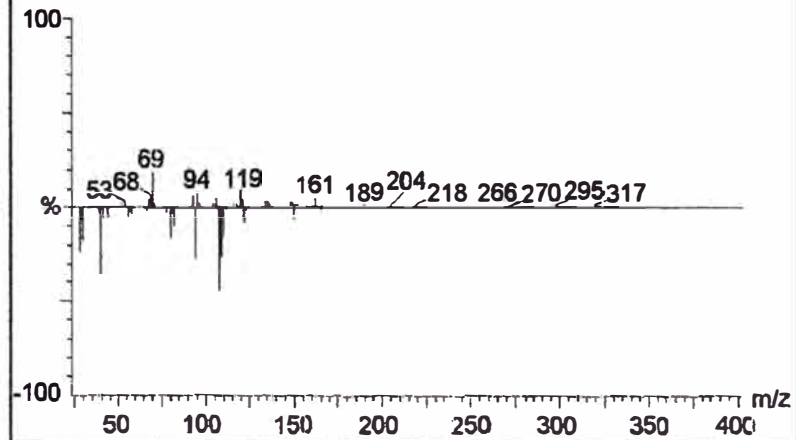
164



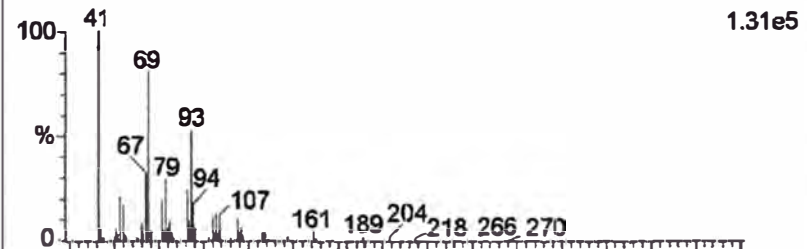
Hit	Compound Name	Formula
1	1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)- 2-METHYL-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>
2	GERANYL BROMIDE	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Br
3	.BETA.-MYRCENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
4	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
5	.BETA.-PINENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6	CYCLOHEXANE, 2-ETHENYL-1,1-DIMETHYL-3-METHYLENE-	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>
7	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2-METHYL-3-METHYLENE-2-(4-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
8	2,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE, (Z)-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
9	10,10-DIMETHYL-N-PHENYL-3,4-DIAZATRICYCLO[5.2.1.0(	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>
10	CYCLOPROPANE, 1,1-DIMETHYL-2-(2,4-PENTADIENYL)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
11	SPIRO[BICYCLO[6.1.0]NONANE-9,1'-CYCLOPENTANE], 3'-	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>
12	9,12,15-OCTADECATRIEN-1-OL, (Z,Z,Z)-	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O
13	SANTALOL, E-CIS, EPI-.BETA.-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
14	CARYOPHYLLENO OXIDE	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
15	5-HEPTEN-1-YNE, 6-METHYL	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub>
16	1,5,9,13-TETRADECATETRAENE	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>
17	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 6,6-DIMETHYL-3-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
18	BICYCLO[8.2.0]DODECA-3,7-DIENE, 11,11-DIMETHYL-	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>
19	TETRAHYDROFURAN-2-OL, 3,4-DI[1-BUTENYL]-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
20	BICYCLO[2.2.1]HEPTANE, 2-METHYL-3-METHYLENE-2-(4-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tunc210807

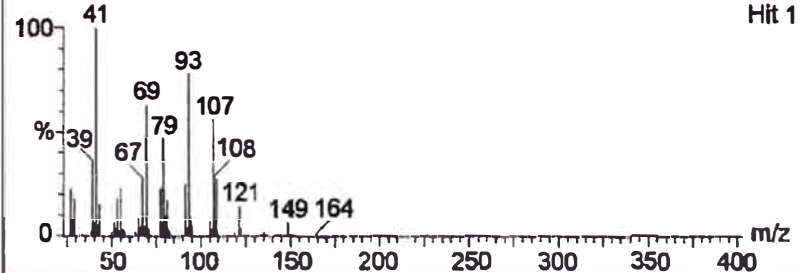
Lima\_Codigo\_A1b 2755 (26.460) Cm (1-2847); Cm (2752:275



Lima\_Codigo\_A1b 2755 (26.460) Cm (2752:2758-(2741:2745+2764:2773))



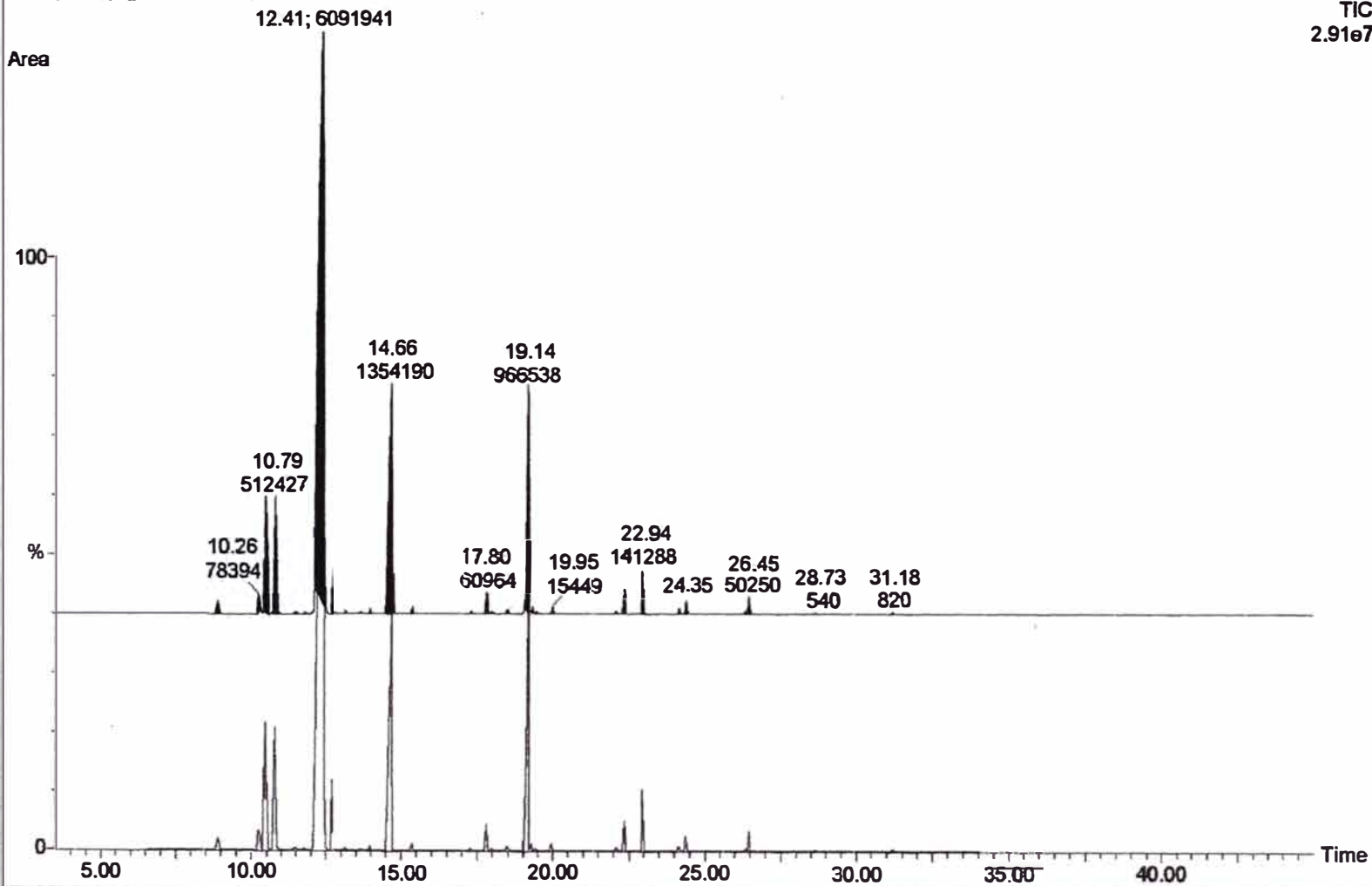
F:825 Nist 2847: 1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHYL-4-METHENIL-1-PENTENO



UNIVERSIDAD DE TALCA  
Instituto de Química de Recursos Naturales  
Laboratorio de análisis Instrumental  
MS-Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b Sm (Mn, 1x3)

08-Oct-2007

Scan EI+  
TIC  
2.91e7

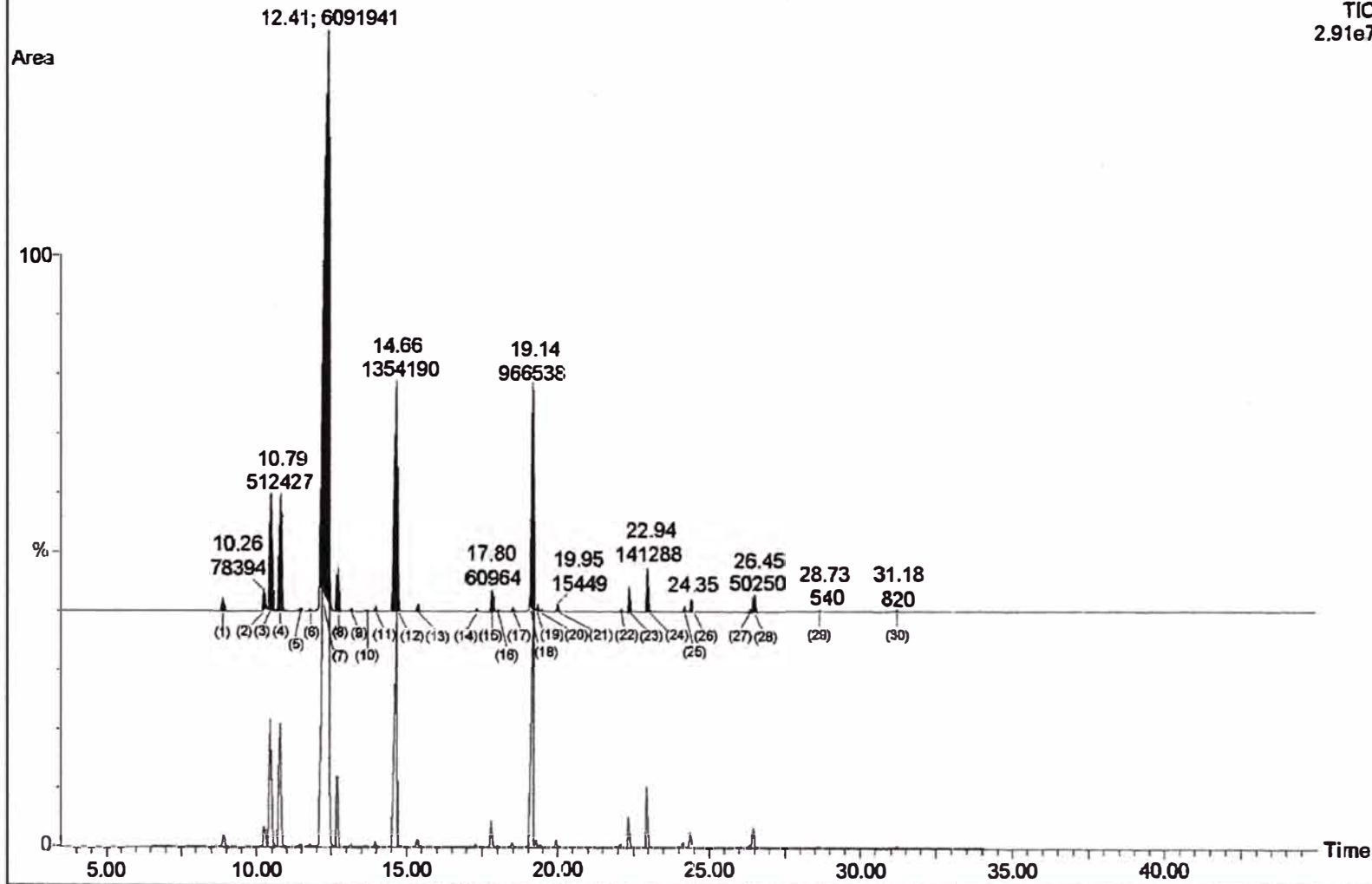


ANEXO No 08  
CÁLCULO DE LA COMPOSICIÓN PORCENTUAL DEL ACEITE ESENCIAL DE  
LIMA CAMBRAY  
Espectro MS-CG - Del Aceite Esencial (Áreas)

UNIVERSIDAD DE TALCA  
Instituto de Química de Recursos Naturales  
Laboratorio de análisis Instrumental  
MS-Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A1b Sm (Mn, 1x3)

08-Oct-2007

Scan E1+  
TIC  
2.91e7



Espectro MS-CG - Del Aceite Esencial (Identificación de picos)


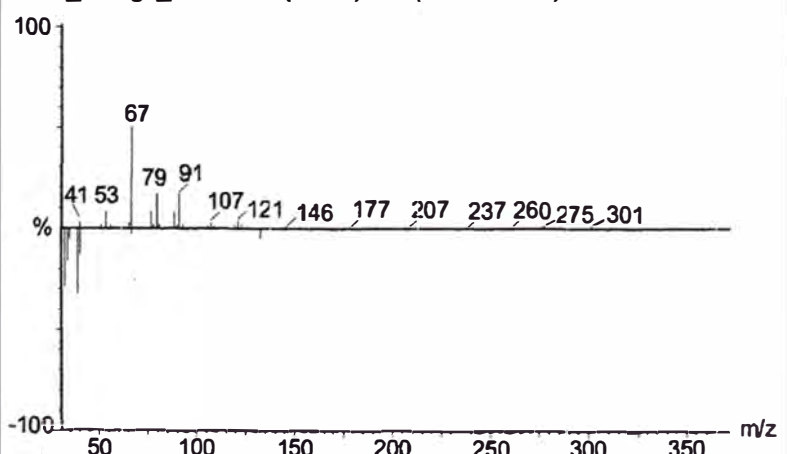
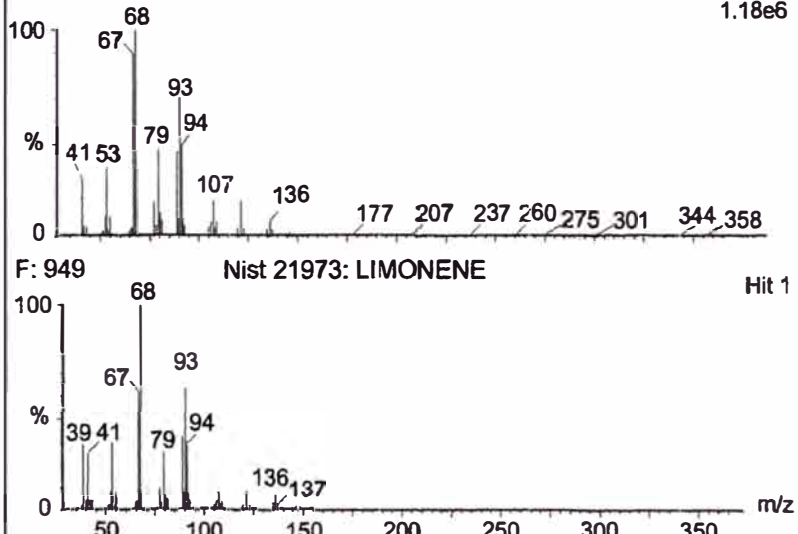
## COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA CAMBRAY

Componente	Alimento de Preparación	Área	% Área Identificados	% Área Gros componentes
1	8,8	50250		0,4969
2	10,26	78394	0,7752	
3	10,48	512427	5,0669	
4	10,79	512427	5,0669	
5	11,5	820		0,0081
6	11,8	820		0,0081
7	12,14	6091941	60,2372	
8	12,7	141288	1,3971	
9	13,12	820		0,0081
10	13,65	540		0,0053
11	13,85	820		0,0081
12	14,66	1354190	13,3903	
13	15,26	820		0,0081
14	17,28	820		0,0081
15	17,79	60964	0,6028	
16	18,02	820		0,0081
17	18,48	820		0,0081
18	19,14	966538	9,5571	
19	19,26	15449		0,1528
20	19,41	540		0,0053
21	19,95	15449		0,1528
22	22,15	540		0,0053
23	22,26	60964		0,6028
24	22,95	141288		1,3971
25	24,15	820		0,0081
26	24,35	50250	0,4969	
27	26,32	820		0,0081
28	26,45	50250	0,4969	
29	28,37	540		0,0053
30	31,18	820		0,0081
<b>Total</b>		<b>10096160</b>	<b>97,0873</b>	<b>2,9127</b>

ESPECTROS CG/EM DE LOS COMPUESTOS "X1" Y "X2"

Compuesto "X1": Identificado como: Limoneno

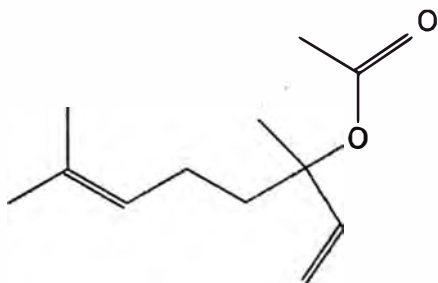
Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> ; Peso Molecular: 136

<p><b>LIMONENE</b> <b>PM</b></p> <p style="text-align: right;"><b>136</b></p> 	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Hit</th> <th>Compound Name</th> <th>Formula</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>LIMONENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>2</td><td>CYCLOBUTANE, 1,2-BIS(1-METHYLETHENYL)-, TRANS-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>3</td><td>CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (S)-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>4</td><td>CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>5</td><td>D-LIMONENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>6</td><td>CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>7</td><td>CYCLOHEXANE, 4-ETHENYL-1,4-DIMETHYL-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>8</td><td>CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>9</td><td>1,5-CYCLOOCTADIENE,1,5-DIMETHYL-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>10</td><td>1,7-OCTADIENE,2-METHYL-6-METHYLENE-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>11</td><td>CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (+/-)</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>12</td><td>1,5-CYCLOOCTADIENE,3,4-DIMETHYL-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>13</td><td>CAMPHENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>14</td><td>1-CYCLOPENTYLCYCLOPENTENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>15</td><td>CYCLOHEPTENE, 5-ETHYLLIDENE-1-METHYL-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>16</td><td>ISOLIMONENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>17</td><td>BICYCLOPENTYLIDENE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>18</td><td>CYCLOHEXANE, CYCLOPROPYLIDENE</td><td>C<sub>9</sub>H<sub>14</sub></td></tr> <tr><td>19</td><td>7-PROPYLIDENE-BICYCLO[4.1.0]HEPTANE</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> <tr><td>20</td><td>SPIRO[2.4]HEPTANE, 1,5-DIMETHYL-6-METHYLENE-</td><td>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></td></tr> </tbody> </table>	Hit	Compound Name	Formula	1	LIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2	CYCLOBUTANE, 1,2-BIS(1-METHYLETHENYL)-, TRANS-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (S)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	4	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5	D-LIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	6	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	7	CYCLOHEXANE, 4-ETHENYL-1,4-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	8	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	9	1,5-CYCLOOCTADIENE,1,5-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	10	1,7-OCTADIENE,2-METHYL-6-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	11	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (+/-)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	12	1,5-CYCLOOCTADIENE,3,4-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	13	CAMPHENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	14	1-CYCLOPENTYLCYCLOPENTENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	15	CYCLOHEPTENE, 5-ETHYLLIDENE-1-METHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	16	ISOLIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	17	BICYCLOPENTYLIDENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	18	CYCLOHEXANE, CYCLOPROPYLIDENE	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>	19	7-PROPYLIDENE-BICYCLO[4.1.0]HEPTANE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	20	SPIRO[2.4]HEPTANE, 1,5-DIMETHYL-6-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Hit	Compound Name	Formula																																																														
1	LIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
2	CYCLOBUTANE, 1,2-BIS(1-METHYLETHENYL)-, TRANS-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
3	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (S)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
4	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
5	D-LIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
6	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
7	CYCLOHEXANE, 4-ETHENYL-1,4-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
8	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-, (R)-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
9	1,5-CYCLOOCTADIENE,1,5-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
10	1,7-OCTADIENE,2-METHYL-6-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
11	CYCLOHEXANE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHENYL)-, (+/-)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
12	1,5-CYCLOOCTADIENE,3,4-DIMETHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
13	CAMPHENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
14	1-CYCLOPENTYLCYCLOPENTENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
15	CYCLOHEPTENE, 5-ETHYLLIDENE-1-METHYL-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
16	ISOLIMONENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
17	BICYCLOPENTYLIDENE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
18	CYCLOHEXANE, CYCLOPROPYLIDENE	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>																																																														
19	7-PROPYLIDENE-BICYCLO[4.1.0]HEPTANE	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
20	SPIRO[2.4]HEPTANE, 1,5-DIMETHYL-6-METHYLENE-	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>																																																														
<p><b>INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN</b> <b>LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL</b> <b>MS_Aceite/GCAceite2004/Tune2 10807</b> Lima_Codigo_A2b 1035 (11,23) Cm (1035-21973)</p> 	<p>Lima_Codigo_A2b 1035 (11,23) <span style="float: right;">1.18e6</span></p>  <p>F: 949 <span style="float: right;">Hit 1</span></p> <p style="text-align: center;">Nist 21973: LIMONENE</p>																																																															

(Acetato de Linalilo)

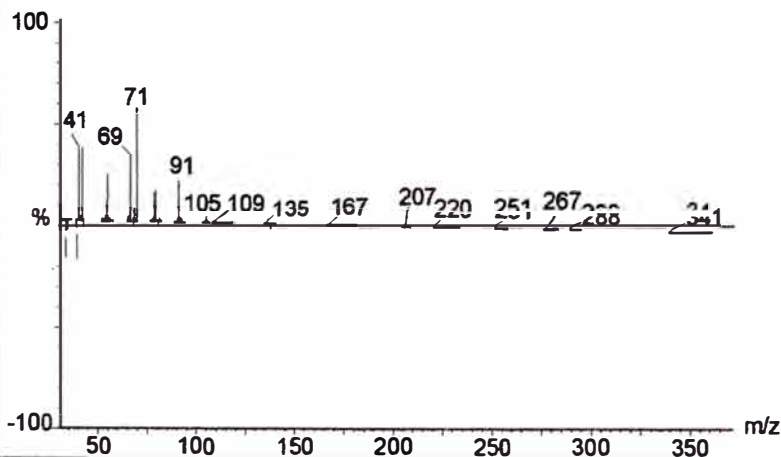
Fórmula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>; Peso Molecular: 196

**1,6-OCTADIEN-3-OL,3,7-DIMETHYL-, ACETATE  
PM 196**

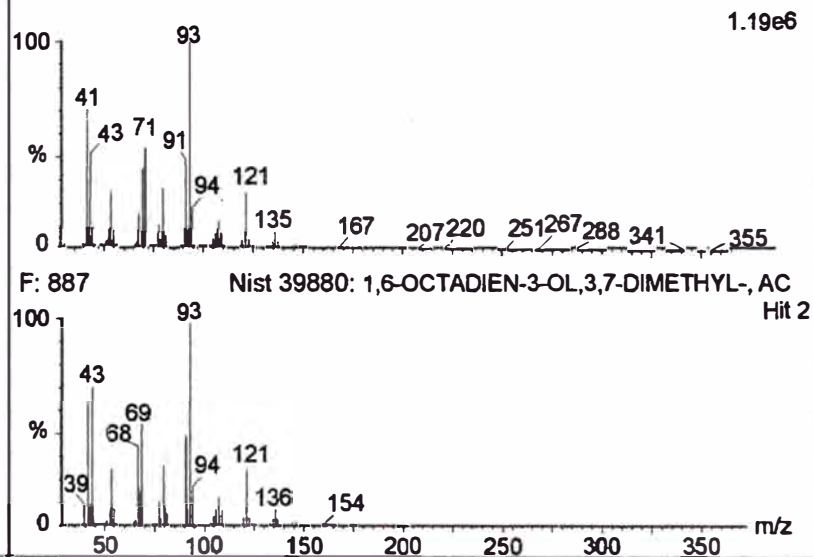


Hit	Compound Name	Formula
1	1,6-OCTADIEN-3-OL,3,7-DIMETHYL-, 2-AMINO BENZOATO	C17H23O2N
2	1,6-OCTADIEN-3-OL,3,7-DIMETHYL-,ACETATE	C12H20O2
3	1,6-OCTADIEN-3-OL,3,7-DIMETHYL	C14H24O
4	BUTANOIC ACID,3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ESTER	C14H24O2
5	LINALYL BUTYRATE	C14H24O2
6	1,6,10-DODECATRIEN-3-OL, 3,7,11-TRIMETHYL	C15H26O
7	LINALYL ISOBUTYRATE	C14H24O2
8	BICYCLO[3,1,0]HEXAN-2-OL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETH	C10H18O
9	CIS-SABINENEHYDRATE	C10H18O
10	TERPINEOL, Z-,BETA-	C10H18O
11	2,6-OCTADIEN-1-OL, 2,7-DIMETHYL-	C10H18O
12	BENZENE, [(1-ETHENYL-1,5-DIMETHYL-4-HEXENYL)OXY	C17H24O
13	1,2-DIHYDROPYRIDINE, 1-(1-OXOBUTYL)-	C9H13ON
14	CYCLOHEXANOL, 2-METHYL-5-(1-METHYLETHENYL)-	C10H18O
15	LINALYL PHENYLACETATE	C18H24O2
16	1,6,10-DODECATRIEN-3-OL, 3,7,11-TRIMETHYL-, (E)-	C15H26O
17	BICYCLO[3,1,0]HEXAN-3-OL, 4-METHYL-1-(1-METHYLETH	C10H18O
18	CYCLOPROPANE, 1,1-DIMETHYL-2-(3-METHYL-1,3-BUTA	C10H16
19	BICYCLO[3,1,0]HEXAN-2-OL, 2-METHYL-5-(1-METHYLET	C10H18O
20	BICYCLO[4,1,0]HEPTAN-3-OL, 4,7,7-TRIMETHYL-, (1-ALP	C10H18O

INSTITUTO DE QUIMICA DE RRNN  
LAB. DE ANALISIS INSTRUMENTAL  
MS\_Aceite/GCAceite2004/Tune210807  
Lima\_Codigo\_A3b 1332 (14,607) Cm (1332-39880)



Lima\_Codigo\_A2b 1338 (14.651)





A2-LIMA [m.pertino] en cdcl3 avance 300 rnmhl/sean-cipuc



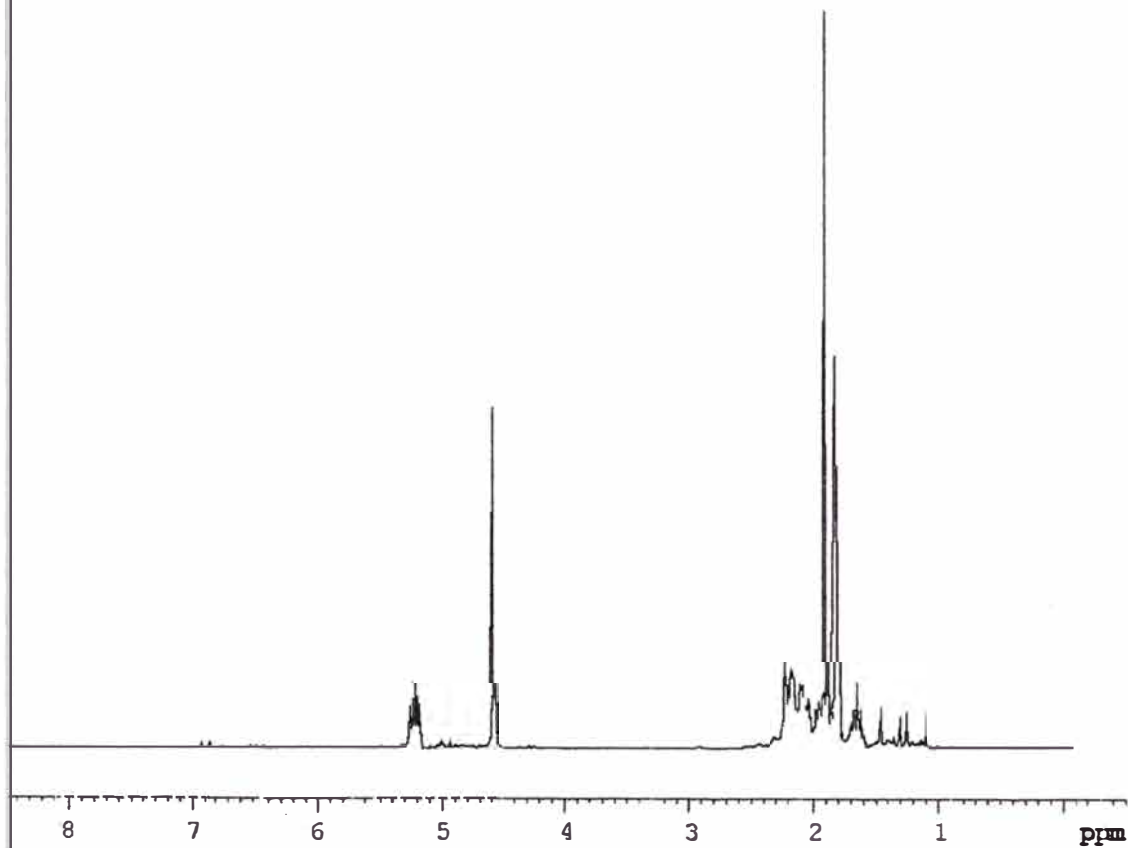
Current Data Parameters  
 NAME x081007-scimed-a2-LIMA  
 EXRNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20071008  
 Time 13.08  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 MM Multinu  
 PULPROG zg30  
 TD 32768  
 SOLVENT cdcl3  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 8278.141 Hz  
 BIDRES 0.252621 Hz  
 AQ 1.9793216 sec  
 RG 22.5 usec  
 DW 60.400 usec  
 TE 300.0 K  
 D1 1.00000000 sec

===== CHANNEL f1 =====

NUC1 1H  
 P1 9.30 usec  
 PL1 3.00 dB  
 RF01 300.04234711 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 300.0021132 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 2.00



A2-LIMA [m.pertino] en cdcl3 avance 75 rnmcl3/sean-cipuc

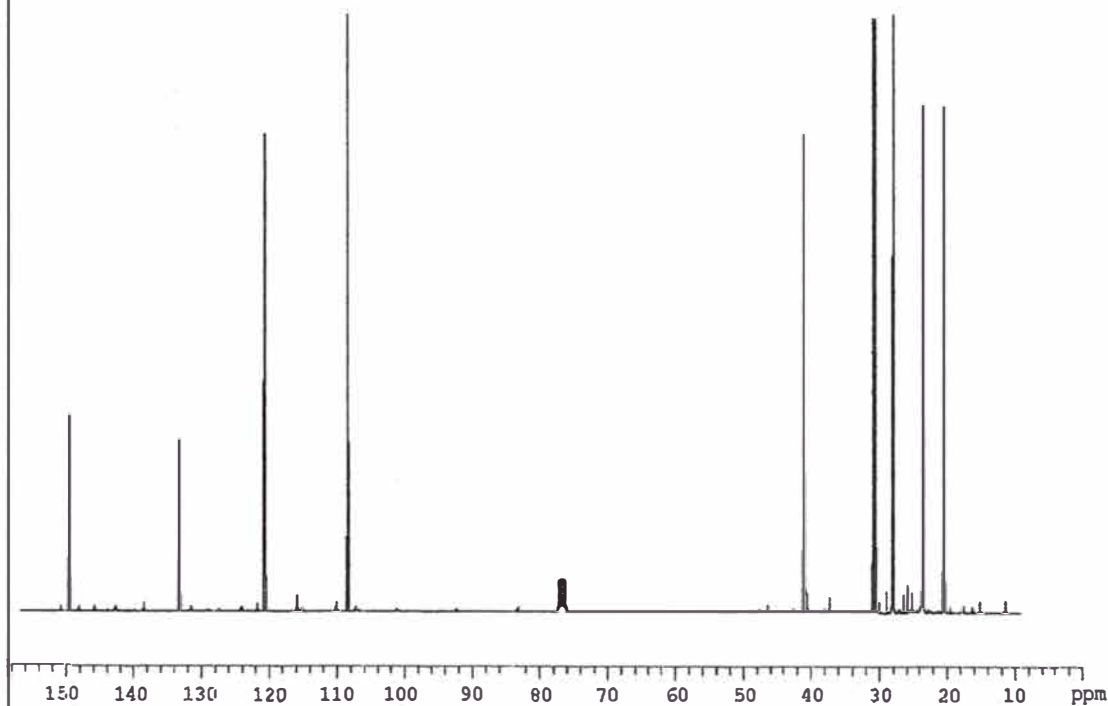


Current Data Parameters  
NAME x081007-achmeda-A2-LIMA  
EXNO 2  
PROCNC 2

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20071008  
Time 13.28  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 MM Multinu  
PULPROG zg30  
TD 32768  
SOLVENT CDCl3  
NS 16  
DS 2  
SWH 8167.141 Hz  
FIDRES 0.251827 Hz  
AQ 1.9789238 sec  
RG 21.7 usec  
DW 60.300 usec  
TE 300.0 K  
D1 1.00000000 sec

====CHANNEL f1====  
NUC1 13C  
P1 12.10 usec  
PL1 3.00 dB  
SFO1 75.84234711 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.0021132 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 2.00



## ANEXO Nº 11

### APLICACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMA

El aceite esencial de lima tiene múltiples aplicaciones:

- Se utiliza para realzar el sabor de otras frutas, para suavizar la carne, los platos en los que se usa este jugo para saborizar necesitan poca sal lo que es de utilidad para restringir el sodio.
- El aceite esencial de lima tiene aroma cítrico, agrídulce, refrescante por lo que se le emplea en las aguas de tocador masculinas, en las aguas deportivas, la Coca Cola y licores.
- Combina muy bien con otros aceites por lo que se le utiliza en masajes.
- Presenta acción astringente en piel grasosa.
- Ayuda a revitalizar los músculos cansados. Combate los dolores reumáticos.
- Es estimulante digestivo.
- Activa y estimula los estados de apatía, desánimo, depresión.
- Serena y anima una mente cansada.
- Las infusiones de las hojas de lima se emplean para combatir los males nerviosos y estados de alteración cardiaca.
- El jugo de los frutos como antiescorbútico, para tratar hematurias, cálculos renales y de la vejiga, hipotensora y febrífuga.
- La cáscara del fruto es tónico-estimulante, carminativa y aperitiva. La infusión de las semillas se utiliza como antihelmíntico.
- Decocción de hojas como antiespasmódico.

Las hojas, las flores y la corteza de los frutos contienen abundante aceite esencial donde predominan el limoneno y citral.

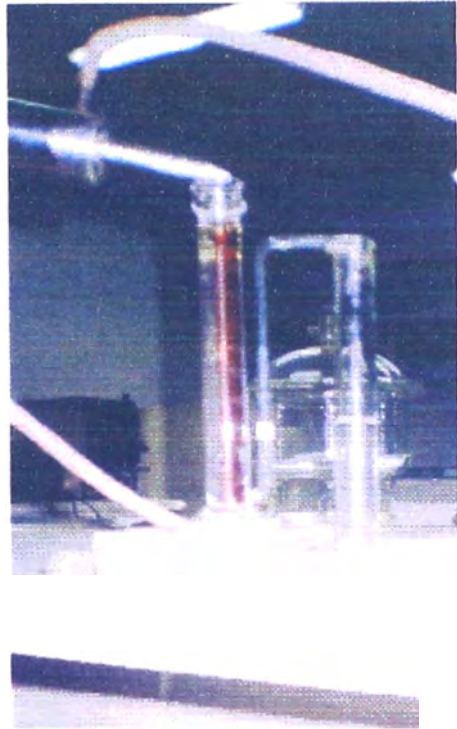
La pulpa de los frutos poseen grandes cantidades de ácidos orgánicos y vitamina C, es fuente de ácido cítrico. La corteza del fruto contiene pectina y junto con la pulpa, hesperidina.

ANEXO Nº 12

EQUIPO DE EXTRACCIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR Y OTROS



Equipo extractor de aceite esencial por arrastre de vapor



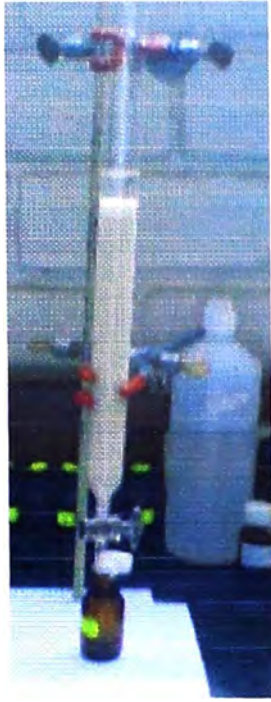
Probeta Florentino donde se recolecta el aceite esencial



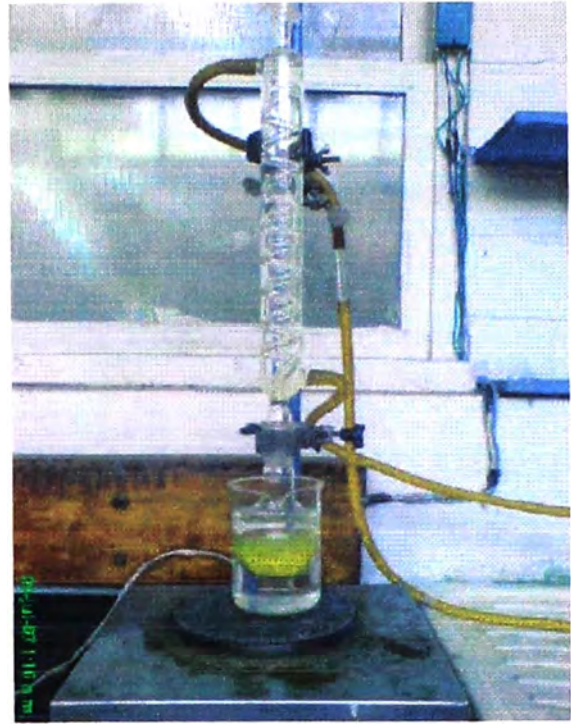
Embudo de decantación donde se separa el aceite esencial del agua



Aceite esencial en reposo para su decantación



Equipo para cromatografía en columna del aceite esencial



Equipo de extracción por reflujo para la marcha preliminar



Extracto después de 4 horas de reflujo en metanol



Concentrado del extracto metanólico

## ANEXO Nº 13

### FOTOGRAFÍAS DEL LIMERO, HOJAS, FLORES Y FRUTOS



Limero



Hoja y fruto



Flor y hojas



Flor y Fruto

Fotografías tomadas en la localidad de Trapichillo, que se sitúa a 500 m.s.n.m. en el distrito de Cumba, Provincia de Utcubamba en la Región de Amazonas.