



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Extracción de aceites esenciales de Citrus maxima y sus  
híbridos. Estudio de la composición

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural

AUTOR/A: Abounnour, Imane

Tutor/a: Llorens Molina, Juan Antonio

Cotutor/a externo: OLIVARES FUSTER, OSCAR JESUS

Director/a Experimental: VACAS GONZALEZ, SANDRA

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA  
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO RURAL**



**UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA**



**Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural**

***EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES  
DE CITRUS MÁXIMA Y SUS HÍBRIDOS.  
ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN***

**TRABAJO DE FIN DE GRADO  
GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL**

**ALUMNA:  
IMANE ABOUNNOUR**

**TUTORES:  
Juan A. Llorens-Molina (UPV)  
Óscar Olivares-Fuster (Todolí Citrus Fundació)**

**Curso académico: 2023/2024  
CONVOCATORIA ENERO 2024**

## **TÍTULO: EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE *CITRUS MAXIMA* Y SUS HÍBRIDOS. ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN.**

### **Resumen:**

Los aceites esenciales son extractos naturales obtenidos de diferentes órganos de las plantas. Están constituidos por la fracción volátil y semivolátil (principalmente compuestos monoterpénicos) de los productos de su metabolismo secundario. Estos compuestos pueden separarse por muchos métodos de extracción y generalmente muestran una composición muy compleja. Sin embargo, el concepto de aceites esenciales se refiere al uso específico de determinados métodos de extracción.

El estudio de la composición química de los aceites esenciales tiene mucho interés ya que son objeto de numerosas aplicaciones prácticas en diversos sectores de la industria, dando lugar a un comercio muy activo. Consecuentemente, su composición se ha normalizado para combatir el fraude y la adulteración. Se utilizan en la cosmética y en composiciones de perfumes por sus propiedades aromáticas, así como en fitoterapia y aromaterapia. Por su actividad biológica: antimicrobiana, antioxidante, alelopática, etc., los aceites esenciales son objeto de un creciente interés en el ámbito fitosanitario y agroalimentario.

El objetivo del trabajo es caracterizar la composición química del aceite esencial procedente del epicarpio de seis diferentes híbridos de Pummelo; *Citrus maxima*, *C. maxima* x *C. paradisi*, *C. maxima* x (*C. ichangensis* x *C. medica*), *C. maxima* x (*C. aurantium* x *C. medica*), *C. maxima* x (*C. sinensis* x *C. reticulata*); comparando dos métodos de extracción: la hidrodestilación y la extracción con disolventes.

Las muestras obtenidas han sido analizadas con cromatografía de gases usando dos tipos de detectores: detector de espectroscopía de masas (MS) para el análisis cualitativo (identificación de los componentes del aceite esencial) y detector de ionización de llama (FID) para el análisis cuantitativo.

Es interesante conocer la composición química de estas variedades, ya que algunas son exóticas y poco conocidas. Pueden contener compuestos con una potencial actividad biológica que podrían dar lugar a nuevas aplicaciones prácticas.

Este trabajo también pretende valorizar la corteza de la fruta, que a veces no se aprovecha lo suficiente.

**Palabras claves:** Aceites esenciales, Cítricos, Métodos de extracción, Composición química.

**Alumna:** Imane Abounnour

**Tutores académicos:** D. Juan Antonio Llorens Molina y D. Óscar Olivares- Fuster.

Valencia, Enero 2024.

## **TITLE: EXTRACTION OF ESSENTIAL OILS FROM DIFFERENT VARIETIES OF CITRUS MAXIMA AND THEIR COMPOSITIONS.**

### **Abstract**

Essential oils are natural extracts obtained from different organs of plants. They are made up of the volatile and semi-volatile fraction (mainly monoterpene compounds) of the products of their secondary metabolism. Although these compounds can be separated by many extraction methods, they generally have a very complex composition. However, the concept of essential oils refers to the specific use of a certain extraction method.

The study of the chemical composition of essential oils is of great interest as they are the subject of numerous practical applications in various industries, giving rise to a very active trade. Consequently, their composition has been standardized to combat fraud and adulteration. They are used in cosmetics and perfume compositions for their aromatic properties, as well as in phytotherapy and aromatherapy. Due to their biological activity, such as antimicrobial, antioxidant, allelopathic, etc., essential oils are the subject of growing interest in the phytosanitary and agri-food sector.

The aim of this work is to characterize the chemical composition of the essential oil from the epicarp of six different varieties of Pummelo; *Citrus maxima*, *C. maxima* x *C. paradisi*, *C. maxima* x (*C. ichangensis* x *C. medica*), *C. maxima* x (*C. aurantium* x *C. medica*), *C. maxima* x (*C. sinensis* x *C. reticulata*); comparing two extraction methods: hydrodistillation and solvent extraction.

The samples obtained have been analyzed by gas chromatography using two types of detectors: mass spectrometry (MS) detector for qualitative analysis (identification of essential oil components) and flame ionization detector (FID) for quantitative analysis.

It is interesting to know the chemical composition of these varieties, as some are exotic and little known. They may contain compounds with potential biological activity that could lead to new practical applications.

This work also aims to valorize the fruit peel, which is sometimes not sufficiently utilized.

**Keywords:** Essential oils, Citrus, Extraction methods, Chemical composition.

Student: Imane Abounnour

Academic mentors: D. Juan Antonio Llorens Molina y D. Óscar Olivares- Fuster.

Valencia, January 2024.

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quiero agradecer de corazón a mis tutores, el Dr. Juan Antonio Llorens-Molina y el Dr. Óscar Olivares-Fuster, por su constante apoyo y dedicación. Aprender de ellos ha sido una experiencia maravillosa y les estoy muy agradecida por estar siempre disponibles para mí.*

*También quiero agradecer al IAM por proporcionarme las instalaciones y el equipo necesarios para llevar a cabo mi trabajo de investigación.*

*A la Fundación Todolí Citrus quiero expresar mi agradecimiento por su colaboración y respaldo.*

*Por último, quiero agradecer a mis padres por todo lo que han hecho por mí. Todo lo que logro es gracias a su amor y apoyo incondicional.*

# ÍNDICE

<b>1- INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1-1 Origen y taxonomía de los cítricos .....</b>	<b>1</b>
<b>1-2 El pummelo .....</b>	<b>1</b>
<b>1-3 Aceites esenciales (AEs) .....</b>	<b>2</b>
1-3-1 Definición.....	2
1-3-2 Usos .....	2
1-3-3 Propiedades físicas .....	3
1-3-4 Composición química .....	3
1-3-5 Importancia económica .....	6
1-3-6 Factores de variabilidad de los aceites esenciales (AEs) .....	6
1-3-7 Métodos de extracción de aceites esenciales .....	7
1-3-8 Análisis de los aceites esenciales.....	8
<b>2- OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
<b>3- MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>3-1 Material vegetal .....</b>	<b>10</b>
3-1-1 Pummelo Chandler ( <i>C. maxima</i> ).....	10
3-1-2 Híbridos de Pummelo .....	10
<b>3-2 Métodos de extracción .....</b>	<b>13</b>
3-2-1 Hidrodestilación.....	13
3-2-2 Extracción sólido-líquido .....	15
<b>3-3 Análisis de los compuestos obtenidos.....</b>	<b>16</b>
3-3-1 Análisis GC-FID.....	16
3-3-2 Análisis GC- MS.....	16
<b>4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>4-1 Clasificación química de los compuestos identificados .....</b>	<b>17</b>
<b>4-2 Hidrodestilación.....</b>	<b>28</b>
<b>4-3 Extracción Sólido-líquido (S-L) .....</b>	<b>28</b>
<b>4-4 Comparación entre los dos tipos de extracción en cada híbrido.....</b>	<b>28</b>
4-4-1 Pummelo Chandler .....	29
4-4-2 Lumia Valencia.....	30
4-4-3 Star Ruby .....	32
4-4-4 Valentine .....	32
4-4-5 Oroblanco .....	33
4-4-6 Lumia Borneo .....	34
<b>5- CONCLUSIONES .....</b>	<b>36</b>
<b>6- BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE ILUSTACIONES

Ilustración 1 Mapa genética de cítricos Fuente: Luro et al., 2017 .....	1
Ilustración 2 Estructura química del limoneno. Fuente: Elaboración propia .....	3
Ilustración 3 Estructura química del bisaboleno. Fuente: elaboración propia .....	4
Ilustración 4 Estructura química del valenceno. Fuente: elaboración propia .....	4
Ilustración 5 Estructura química de la Nootkatona. Fuente:Elaboración propia .....	5
Ilustración 6 Estructura química del óxido de manool. Fuente:Elaboración propia.....	5
Ilustración 7 Estructura química de Alifáticos. Fuente: Elaboración propia .....	5
Ilustración 8 Estructura química del citropteno. Fuente: Elaboración propia .....	6
Ilustración 9 Partes de la técnica de la cromatografía de gases. Fuente: Montoya Pavi et al, 2012 .....	8
Ilustración 10 Morfología de la variedad Pomelo Chandler. Fuente: Todoli Citrus Fundació .....	10
Ilustración 11 Morfología de la variedad oroblanco. Fuente: Todoli Citrus Fundació... ..	11
Ilustración 12 Morfología de la variedad Lumia de Borneo. Fuente: Todoli Citrus Fundació .....	11
Ilustración 13 Morfología de la variedad Lumia de Valencia. Fuente: Todoli Citrus Fundació .....	12
Ilustración 14 Morfología de la variedad Pummelo Valentine. Fuente: Todoli .....	12
Ilustración 15 Morfología del Star Ruby. Fuente: Todoli Citrus Fundació .....	13
Ilustración 16 Equipo Clevenger.Fuente:Elaboración propia .....	14

## ÍNDICE TABLAS

Tabla 1 Composición aceites esenciales de los híbridos: Lumia de Valencia, Pummelo Chandler y Star Ruby .....	18
Tabla 2 Composición de los aceites esenciales de los híbridos estudiados: Valentine, Oroblanco y Lumia de Borneo .....	23
Tabla 3 Compuestos comunes entre el Lumia de Valencia y sus parentales .....	31
Tabla 4 Compuestos comunes entre el Valentine y sus parentales .....	33
Tabla 5 Compuestos comunes entre el Lumia de Borneo y sus parentales.....	35

# 1- INTRODUCCIÓN

## 1-1 Origen y taxonomía de los cítricos

Los cítricos verdaderos pertenecen a la familia *Rutaceae*, y a la subfamilia de angiospermas *Aurantioideae*. Dentro de ese grupo se encuentran cuatro especies que han sido identificadas como progenitoras de la gran mayoría de las especies cultivadas, tal como *Citrus maxima* (L.) OSB cuyo nombre común es zamboa o pummelo, *C. reticulata* BLANCO (mandarinos), *C. medica* L. (cidros) y las *Papedas*, que incluyen varias especies (Ortiz Marcide, 1986).

Las tres primeras, descritas como especies ancestrales, evolucionaron por separado en tres zonas geográficas distintas: el archipiélago malayo, el sur de China y el noreste de la India, respectivamente. Fue durante esta fase evolutiva que las tres especies adquirieron características específicas como el tamaño y el color de los frutos, la reproducción asexual, la resistencia a los factores ambientales e incluso el tamaño del genoma. (Luro, 2015).

Posteriormente, en el proceso evolutivo, se produjo el mestizaje sexual en el área de población mixta y apareció una forma de hibridación interespecífica, ascendiendo al nivel de especie (Luro, 2015): naranjo (*C. sinensis* (L.) OSB) y naranjo amargo (*C. aurantium* L.), pomelo (*C. paradisi* MACF), otros mandarinos, limonero (*C. limon* (L.) BURM.f.), y limero (*C. aurantifolia* (CHRISTM.) SWING.) (Ortiz Marcide, 1986).

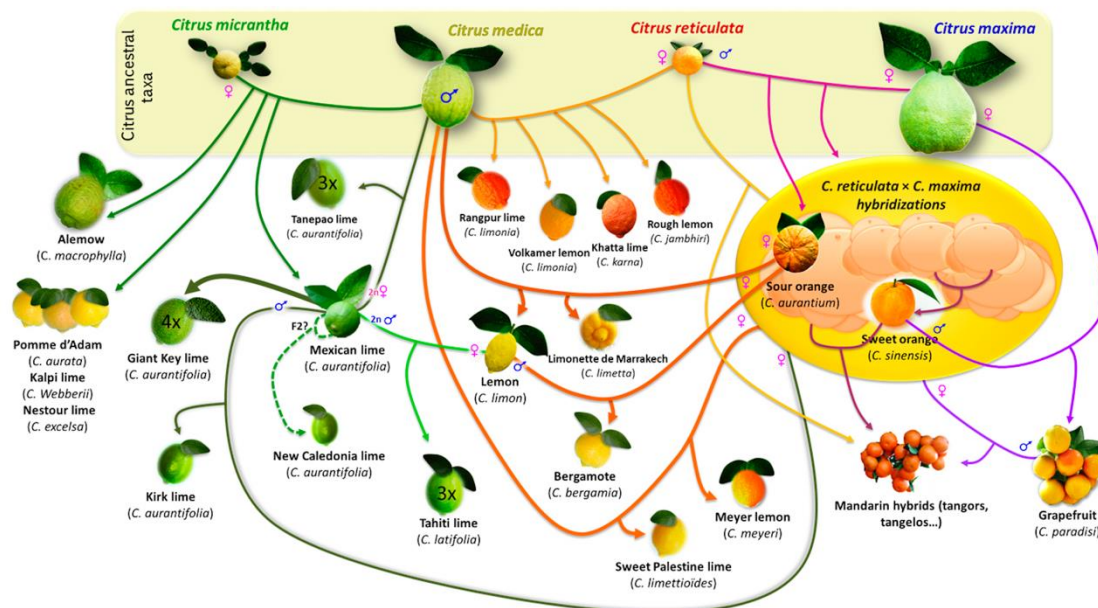


Ilustración 1 Mapa genético de cítricos Fuente: Luro et al., 2017

## 1-2 El pummelo

El pummelo o zamboa (*C. maxima*) es de origen asiático, crece de forma silvestre en China, en muchos estados del noreste de la India y también en la región malaya del sureste asiático (Milind, 2008). Entró en Europa en el siglo XII, concretamente en España, pero nunca se consumió a gran escala.



El árbol de esta especie es de tamaño mediano o grande. Tiene hojas grandes con un peciolo alado y tanto la nueva brotación floral como vegetativa son pubescentes. En cuanto a los frutos y las flores del pummelo, son los más grandes entre los cítricos cultivados y comercializados en el mundo. Son comunes los frutos de 20-25 cm de diámetro, incluso se pueden ver de hasta 30 cm de diámetro. Los frutos de pummelo se caracterizan por tener cortezas finas y generalmente lisas, de color amarillo o amarillo verdoso. A continuación, se encuentra un albedo grueso y esponjoso. La pulpa del pummelo es firme y poco jugosa, con membranas carpelares crujientes y grandes sacos de zumo (Milind, 2008). Respecto al sabor, esta especie es poco ácida, y más o menos amarga según la variedad.

### **1-3 Aceites esenciales (AEs)**

#### **1-3-1 Definición**

En la norma ISO 9235: 2013, término 2.11 se definen los aceites esenciales como: “Producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos a partir del epicarpio de los cítricos, o por destilación en seco, después de la separación acuosa, en su caso, por procesos físicos.”

Un aceite esencial suele estar formado por mezclas naturales complejas que contienen generalmente entre 20 y 60 componentes diferentes en distintas concentraciones. En muchos casos, existe un reducido número de compuestos con una proporción relativamente elevada, que son los que definen el quimiotipo del aceite esencial con uno o dos componentes principales en altas concentraciones (entre el 50% y el 70%), mientras que los demás componentes están presentes en cantidades menores (Bakkali et al., 2008).

#### **1-3-2 Usos**

Los aceites esenciales se pueden utilizar de diversas formas según la fuente, la calidad, el procedimiento de extracción, etc. Los aceites esenciales han sido documentados para uso industrial en la producción de perfumes, cosméticos, jabones, champús o geles limpiadores. Otro aspecto interesante de estos aceites es su potencial como agentes terapéuticos en aromaterapia o como principios activos o excipientes en productos farmacéuticos. Otro uso importante de los aceites esenciales es en la industria alimentaria para dar sabor a bebidas y productos alimenticios (Preedy, 2015). Más recientemente, los aceites esenciales han despertado un creciente interés debido a sus diversas actividades biológicas. Se utilizan en áreas como la medicina, la industria agroalimentaria y la protección contra la corrosión de metales. En la industria agroalimentaria, los aceites esenciales se utilizan para la preservación de alimentos debido a sus propiedades antioxidantes, reemplazando aditivos potencialmente perjudiciales. También ofrecen una alternativa a los productos químicos en la industria alimentaria debido a sus actividades antibacterianas y antifúngicas. En el ámbito agronómico, los aceites esenciales pueden usarse como pesticidas y herbicidas alternativos, brindando un método más respetuoso con el medio ambiente para combatir las malas hierbas. Sus características alelopáticas y fitotóxicas permiten dirigirse

selectivamente a las malas hierbas, ofreciendo así una alternativa a los productos químicos perjudiciales (Molina, 2021).

### 1-3-3 Propiedades físicas

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles y incoloros o ligeramente amarillos cuando están recién destilados. Su densidad es generalmente inferior a la del agua. Tienen un índice de refracción alto. Son solubles en disolventes orgánicos como el hexano o el diclorometano, y son muy poco solubles en agua, pero lo suficiente para comunicarle el aroma, de ahí el uso comercial de los denominados hidrolatos (Bruneton, 2001).

### 1-3-4 Composición química

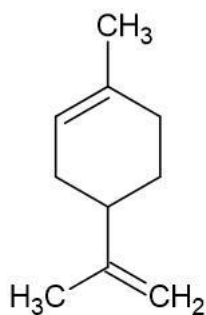
Los aceites esenciales suelen consistir en una mezcla compleja de compuestos muy variables, casi exclusivamente terpenos y, en menor medida, compuestos aromáticos derivados de fenilpropanos (incluidos cinamaldehído, eugenol, anetol, anisaldehído y safrol), así como alcoholes, aldehídos y cetonas alifáticos, principalmente (Buettner y Schieberle, 2001).

#### 1-3-4-1 Terpenos

Los terpenos, son metabolitos secundarios formados por unidades de isopreno. Se pueden clasificar según el número de unidades de isopreno que forman su estructura.

- Monoterpenos

Son los más abundantes en los AEs. Son terpenos de 10 átomos de carbono. Contienen dos unidades de isopreno. Pueden ser hidrocarburos o hidrocarburos oxigenados (alcoholes, fenoles, aldehídos y cetonas, éteres, ésteres y epóxidos) (Unidad de informática del instituto de Química)

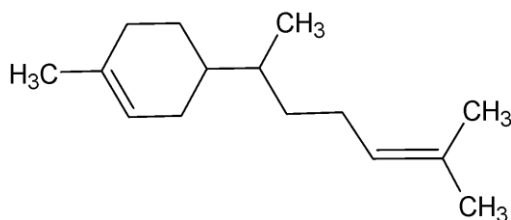


1-metil-4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-eno

Ilustración 2 Estructura química del limoneno. Fuente: Elaboración propia

- Sesquiterpenos

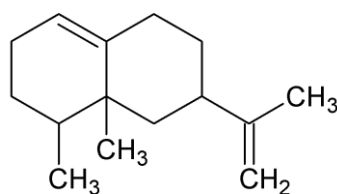
Son terpenos de 15 carbonos. Están compuestos por tres unidades de isoprenos. Pueden ser acíclicos, bicíclicos o monocíclicos, pudiendo, a su vez, ser hidrocarburos o compuestos oxigenados. (Martínez, 1996).



1-metil-4-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-1-eno

bisaboleno

*Ilustración 3 Estructura química del bisaboleno. Fuente: elaboración propia*



4a,5-dimetil-3-(prop-1-en-2-il)-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno

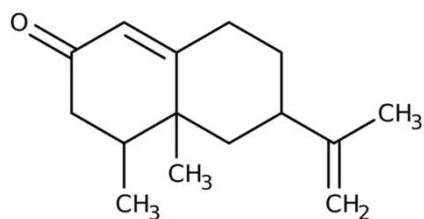
valenceno

*Ilustración 4 Estructura química del valenceno. Fuente: elaboración propia*

- La Nootkatona

La nootkatona es un sesquiterpeno. Se ha encontrado por primera vez en la madera de cedro de Alaska y luego en el aceite de la corteza de pomelo y en su zumo. Es el responsable de la intensidad del sabor del aceite de pomelo. La relación entre la abundancia de la nootkatona en el aceite de pomelo con la intensidad del sabor fue señalada por primera vez por Beisel et al. (1963) de Sunkist Growers. También se encontró en el aceite de otros cítricos como la bergamota, limón, lima, naranja y mandarina. (MacLeod y Buigues, 1964).

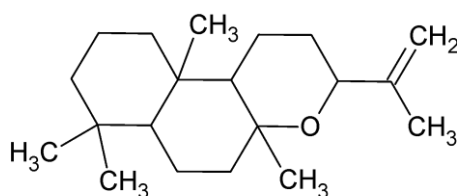
Por sus características organolépticas únicas, la nootkatona se convierte en un producto muy deseado en las industrias de la perfumería, la alimentación, la cosmética y la farmacéutica (Fraatz et al., 2009).



*Ilustración 5 Estructura química de la Nootkatona. Fuente:Elaboración propia*

- Diterpenos

Son los terpenos de 20 carbonos. Compuestos por cuatro unidades de isopreno. Pueden ser también hidrocarburos o derivados oxigenados. (Escobar Flores, 2018)



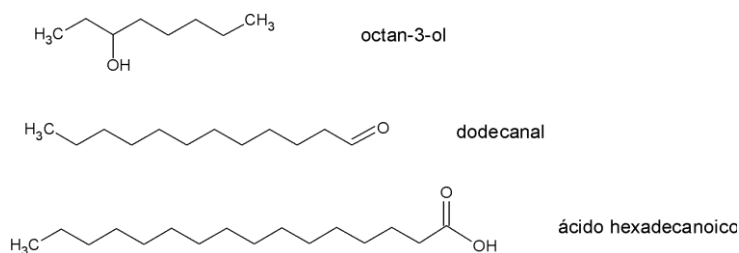
óxido de manool

*Ilustración 6 Estructura química del óxido de manool. Fuente:Elaboración propia*

### 1-3-4-2 Otros

- Alifáticos

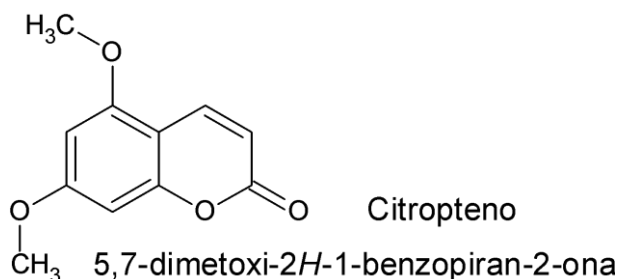
Los alifáticos son frecuentemente de cadena larga y son principalmente, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres.



*Ilustración 7 Estructura química de Alifáticos. Fuente: Elaboración propia*

- Cumarinas

Son principios activos fenólicos que se encuentran en plantas medicinales. La cumarina sirve como estructura básica, a partir de la cual pueden hallarse numerosas moléculas derivadas de ella.



*Ilustración 8 Estructura química del citropteno. Fuente: Elaboración propia*

### 1-3-5 Importancia económica

Los aceites esenciales se han reconocido como sustancias GRAS (Generalmente reconocidas como seguras), (Ouazzou, 2012). Se utilizan en las industrias farmacéuticas y agroalimentaria como aromatizantes o utilizando sus componentes activos como antioxidantes o antimicrobianos. Por lo cual, su aplicación ha adquirido una importancia económica de gran valor.

Según los datos estadísticos obtenidos en 2021, se ha registrado un aumento en la producción de aceites esenciales en España. El volumen de producción de los aceites esenciales ha aumentado a 8422 toneladas ese año (Statista, 2023). El mercado global de aceites esenciales está en desarrollo debido a la creciente demanda en los mercados occidentales, así como por su uso en las industrias farmacéuticas y la agroalimentaria y por la fabricación de productos cosméticos. Se prevé que este mercado crezca un 10% anual hasta 2025 (Businesscoot, 2021). España es uno de los principales productores de aceites esenciales en Europa y ha estado fortaleciendo su posición en el sector comercial año tras año. En 2018, las exportaciones españolas de aceites esenciales aumentaron en un 8,4%. Sin embargo, esta posición comercial es vulnerable ya que se basa en algunas especies de alto valor económico, como el pomelo, el limón y la naranja (Businesscoot, 2021).

Además, hay que destacar que en las industrias agroalimentarias se reutilizan los subproductos para la extracción de los aceites esenciales, que podrán ser utilizados posteriormente como saborizantes o como ingrediente en los cosméticos. La mayoría de las industrias de zumos aprovechan los subproductos para este fin, generando así un mayor valor económico del aceite esencial.

### 1-3-6 Factores de variabilidad de los aceites esenciales (AEs)

Para lograr una producción efectiva y controlada de aceites esenciales, es fundamental tener en cuenta una serie de factores que afectan la composición química de los aceites. En primer lugar, es necesario considerar el tipo de órgano de la planta que se utiliza para la extracción del aceite, ya que diferentes órganos pueden contener diferentes compuestos químicos. Además, la variabilidad genética de una población también puede afectar la composición de los aceites esenciales. En algunos casos, se pueden encontrar diferentes quimiotipos dentro de una misma población que presentan composiciones químicas distintas.

También es importante tener en cuenta que la procedencia geográfica de las plantas puede influir en la composición química de los aceites esenciales. De hecho, algunos quimiotipos pueden estar relacionados con una ubicación geográfica específica, lo que significa que la extracción del aceite esencial de una planta de una ubicación determinada puede producir un aceite con una composición química particular.

Por último, las condiciones ambientales, como el suelo, el clima y las variaciones estacionales, pueden tener un impacto significativo en la composición química de los aceites esenciales. Por lo tanto, es necesario controlar cuidadosamente estos factores para garantizar una producción efectiva y constante de aceites esenciales con la composición deseada (Llorens-Molina, 2021). Consecuentemente, se tiende a la producción de aceites esenciales a partir de cultivares homogéneos y bien identificados. Por último, un importante factor de variabilidad es el método de extracción, al que dedicaremos a continuación un apartado específico.

### **1-3-7 Métodos de extracción de aceites esenciales**

Para la obtención y la extracción de los aceites esenciales de las diferentes partes de una planta o de las cortezas de los frutos se utilizan varios métodos. Entre los más habituales se encuentra la hidrodestilación, es el método en el cual el material vegetal está completamente sumergido en agua a ebullición con agitación constante. Los aceites esenciales obtenidos a través de la hidrodestilación tienen una amplia gama de usos, siendo los más comunes en la perfumería, la cosmética, la industria farmacéutica (como aditivo e insumo para la síntesis de compuestos), la alimentación (como aditivo) y en la fabricación de productos de higiene personal y de limpieza para el hogar (Chavez, 2007). A nivel industrial se utiliza la destilación por arrastre de vapor. El vapor atraviesa el material vegetal y posteriormente se condensa junto con el aceite esencial. La separación entre el aceite esencial y el agua se produce debido a su diferencia de densidad y su incapacidad para mezclarse. A escala de laboratorio, se emplean principalmente equipos como el Clevenger para llevar a cabo la extracción de aceites esenciales. En este método, el material vegetal se introduce en agua que se encuentra en ebullición.

Existen también otros métodos de extracción como el caso de la extracción por fluidos supercrítico (S-CO<sub>2</sub>), que permite obtener extractos libres de solventes, la extracción en este caso es más rápida en comparación a la utilización de solventes orgánicos convencionales y permite lograr una composición química más compleja y variada, teniendo una amplia gama de componentes con distintas propiedades y características.

Por otro lado, la extracción con disolventes es el método más adecuado para materiales vegetales que producen bajas cantidades de aceite esencial, ya que no requiere de altas temperaturas y no modifica ninguno de los componentes del aceite. Este método es comúnmente utilizado en la industria de perfumería y cosmética (Gallart, 2021).

Por último, a la hora de elegir el método de extracción habrá que tener en cuenta que pueda afectar de alguna manera en la composición química y las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales. Por tanto, según el uso final del AE se utiliza un método u otro.

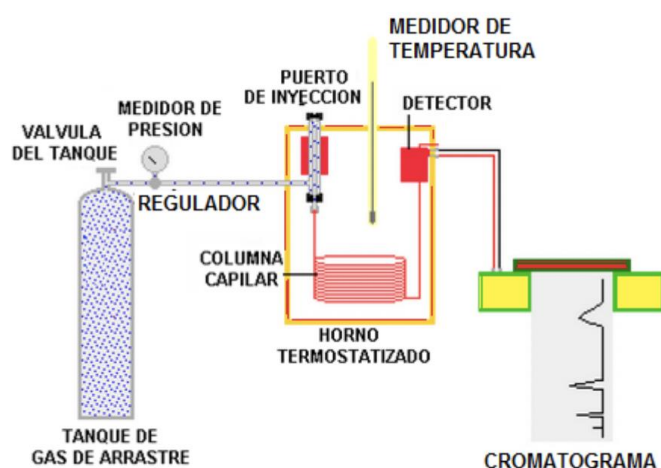
### 1-3-8 Análisis de los aceites esenciales

El análisis de los aceites esenciales puede resultar bastante complejo y difícil ya que se debe emplear técnicas precisas y avanzadas para poder obtener una información fiable. Además, los aceites esenciales están formados por mezclas complejas que pueden contener entre 20 y 60 componentes diferentes (e incluso más) en distintas concentraciones, lo que complica aún más el proceso.

Entre los métodos que se pueden utilizar para la evaluación y análisis de la extracción de los compuestos de los aceites esenciales de las variedades estudiadas, se puede destacar la cromatografía en fase gaseosa con detección por espectroscopía de masas -MS- (identificación) o con detector por ionización de llama (FID), con fines cuantitativos. A continuación, se describen, con carácter general, las técnicas utilizadas en el presente trabajo, describiendo en “material y métodos”, las condiciones concretas de su aplicación.

La cromatografía de gases es el método que más se emplea en los laboratorios químicos para la separación de los componentes volátiles de una mezcla. Se considera el método más simple, más rápido, sencillo y más económico comparado con la metodología de cromatografía de líquidos (Gutiérrez Bouzán et al., 2002).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que el uso de la cromatografía de gases tiene unas limitaciones, ya que los compuestos que se pueden separar por esta técnica deben ser volátiles y térmicamente estables. Es decir que el compuesto debe tener unas ciertas propiedades fisicoquímicas.



*Ilustración 9 Partes de la técnica de la cromatografía de gases. Fuente: Montoya Pavi et al, 2012*

La fase móvil es un gas portador almacenado en un tanque cilíndrico a alta presión. Se conecta al equipo mediante un regulador de presión. La muestra que contiene la mezcla a analizar se introduce mediante unas jeringas en el inyector (Montoya Pavi et al., 2012). El gas lo que hace es transportar esta muestra a columna capilar donde se encuentra la fase estacionaria, que suele

ser un líquido de alto punto de ebullición como el caso de polietilenglicol o silicón. En esta columna es donde se realiza la separación de los diferentes compuestos de la mezcla muestreada. La detección de estas moléculas se hace en el detector donde se produce una señal eléctrica que es amplificada y enviada a un sistema de almacenamiento de datos para ser analizada (Montoya Pavi et al., 2012). Los resultados se reflejan en una gráfica con unos picos, que corresponden a los distintos compuestos eluidos cada uno a un tiempo determinado (tiempo de retención). El detector es la parte más importante de la técnica, por lo cual se debe seleccionar uno adecuado con una sensibilidad adecuada, un bajo nivel de ruido, buena estabilidad y reproducibilidad, alta fiabilidad, manejo sencillo, rápido y con un volumen pequeño (Montoya Pavi et al., 2012). Uno de los detectores más utilizados en la cromatografía de gases es el de ionización de llama (FID) y consiste en una pequeña llama de hidrógeno y aire que genera un medio ionizante de gran eficacia para las sustancias orgánicas y, por tanto, funciona como un sensor muy sensible cuando se combina con componentes electrónicos apropiados, lo que lo convierte en un transductor de alta sensibilidad (Montoya Pavi et al., 2012).

Normalmente la cromatografía de gases debe estar combinada con otras técnicas para que tenga mayor eficiencia. Se suele combinar con espectroscopia de masas (MS), que proporciona información estructural sobre la molécula estudiada, permitiendo, junto a otras fuentes de información, su identificación (Gutiérrez et al., 2002). Esta técnica consiste en la ionización de la muestra mediante el impacto electrónico para la emisión de un electrón de las moléculas (Gutiérrez et al., 2002). Se forman iones fragmento además de los iones moleculares (M<sup>+</sup>), debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía, y su presencia y proporción relativa son características específicas de las moléculas analizadas y las condiciones de ionización empleadas. Los iones resultantes son acelerados y conducidos hacia un sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos, y al detectarlos secuencialmente, se obtiene el espectro de masas de la muestra. (Gutiérrez et al., 2002).

Sin embargo, este acoplamiento puede conllevar a una identificación incorrecta, por lo cual se utiliza un parámetro denominado índice de retención para determinación cualitativa de composiciones de muestras complejas (Zellner et al., 2010).

El índice de retención es una forma de cuantificar la capacidad de un soluto para ser retenido por una columna de cromatografía en relación con la retención de compuestos de referencia. También son útiles para comparar las propiedades de retención de diferentes columnas. De esta manera, los índices de retención pueden ser utilizados para seleccionar la columna de cromatografía más adecuada para una separación específica, lo que puede mejorar la eficacia del proceso cromatográfico (Llorens-Molina, 2021).

## **2- OBJETIVOS**

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar cómo varían los perfiles de aceites esenciales en los distintos híbridos del pummelo cuando cambia el parental masculino. Para ello se ha analizado la composición de los aceites esenciales extraídos de la corteza de una variedad de zamboa y cinco de sus híbridos, empleando dos métodos de extracción y comparando los perfiles cromatográficos.



### 3- MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3-1 Material vegetal

El material vegetal fue proporcionado por Todolí Citrus Fundació y se transportó al Instituto Agroforestal Mediterráneo (IAM) en la UPV. Una vez allí, se colocó en una cámara frigorífica para su conservación. Las muestras fueron recolectadas en febrero de 2021.

En el presente trabajo se incluyeron 1 variedad de Pummelo y 5 híbridos de Pummelo:

- Oroblanco (*C. maxima* x *C. paradisi*)
- Lumia de Borneo (*C. maxima* x (*C. ichangensis* x *C. medica*))
- Lumia de Valencia (*C. maxima* x (*C. aurantium* x *C. medica*))
- Pummelo Valentine (*C. maxima* x (*C. sinensis* x *C. reticulata*))
- Pomelo Chandler (*Citrus maxima*)
- Pomelo Star ruby (*Citrus paradisi* Macf)

#### 3-1-1 Pummelo Chandler ( *C. maxima* )

El Pummelo Chandler se obtuvo en un programa de mejora realizado en California. Es el resultado de la combinación controlada de dos pummelos tailandeses, el Siamese, un pummelo sin ácido y el Siamese Pink, pummelo pigmentado con ácido (Todoli Citrus Fundació, 2020).

El árbol de esta variedad es vigoroso, productivo y de porte abierto. Su corteza es lisa, fina y de color amarillo. Tiene un albedo grueso y ligeramente rosado. Su pulpa es de color rosa, casi roja, poca jugosa, y más dulce y ácida, pero menos amarga que otros pummelos. Posee numerosas semillas (Todoli Citrus Fundació, 2020).



Ilustración 10 Morfología de la variedad Pomelo Chandler. Fuente: Todoli Citrus Fundació

#### 3-1-2 Híbridos de Pummelo

- Oroblanco ( *C.maxima* x *C.paradisi* )

El oroblanco es el resultado del cruce entre un pomelo diploide y un pomelo tetraploide. Se obtuvo dentro del programa de mejora de cítricos llevado a cabo en la universidad de California en 1958. Es una variedad triploide, y por tanto sin semillas y de pulpa blanca. Se caracteriza por su corteza amarilla pálida y verdosa, una corteza gruesa y una pulpa tierna, jugosa y de excelente

calidad. No tiene el amargor asociado al pomelo, pero sí astringencia más notable en zonas frías. Tiene un sabor suave y dulce (Soost et al., 1980.).

El árbol de esta variedad es vigoroso, grande y de porte abierto. Sus hojas son grandes y oscuras.



Ilustración 11 Morfología de la variedad oroblanco. Fuente: Todoli Citrus Fundació

- Lumia de Borneo (*C.maxima* x (*C.ichangensis* x *C.medica*))

La lumia de borneo es una variedad originaria de la India. Tiene una composición genética compleja (50% pummelo, 38% cidro y 12% papeda) lo que da a sus frutos una fragancia notable. Su árbol es vigoroso y de porte abierto. Sus hojas son grandes y oscuras. En cuanto a sus frutos, son de tamaño mediano-grande y de forma oval. Se caracteriza por su corteza gruesa, lisa y con glándulas de aceite hundidas y color amarillo vivo. Es una variedad con numerosas semillas y de pulpa pálida, ácida, fragante y medianamente jugosa (Todoli Citrus Fundació, 2020).



Ilustración 12 Morfología de la variedad Lumia de Borneo. Fuente: Todoli Citrus Fundació

- Lumia de valencia (*C.maxima* x (*C.aurantium* x *C.medica*))

La lumia de valencia es un híbrido de Pummelo con Limón. Se ha originado en el Mediterráneo. El árbol de esta variedad es vigoroso con tendencia a formar copa semiesférica. Tiene hojas grandes con pecíolo alado. Sus frutos son grandes y tienen una morfología esférica. Su corteza es lisa y de color amarillo pálido en la madurez. Posee semillas redondas. Su pulpa es de color amarillo pálido, jugosa, dulce y presenta una acidez refrescante (Todoli Citrus Fundació, 2020).

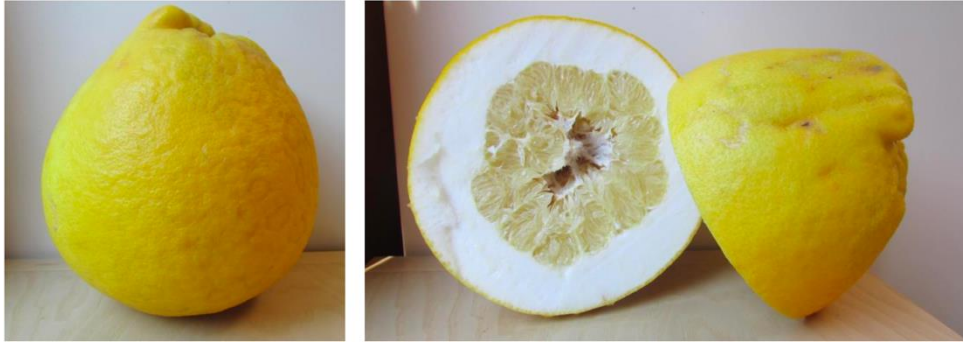


Ilustración 13 Morfología de la variedad Lumia de Valencia. Fuente: Todoli Citrus Fundació

- Pummelo Valentine ( *C. maxima* x (*C. sinensis* x *C. reticulata*))

El pummelo Valentine es el resultado del cruce entre el Pummelo “Siamese Sweet” y un híbrido entre una naranja sanguina y el mandarino Dancy. Este híbrido se ha obtenido dentro del programa de creación de nuevas variedades de la University of California Riverside (EEUU). Los frutos son de tamaño medio-grande y tienen una corteza lisa de color amarillo intenso, más o menos naranja. Su pulpa es muy jugosa, dulce y muy afrutada, con fuertes toques a frutos rojos (Todoli Citrus Fundació , 2020).



Ilustración 14 Morfología de la variedad Pummelo Valentine. Fuente: Todoli

- Pomelo star ruby ( *C. paradisi* Macf)

El Pomelo Star Ruby es una variedad de pomelo que se desarrolló en Texas en 1959 mediante un programa de mejora genética. Se irradió una semilla de la variedad Hudson y se obtuvo un fruto con una pigmentación externa e interna mejorada. La coloración roja en este pomelo se debe a la presencia de licopeno (Todoli Citrus Fundació , 2020).

El árbol del Pomelo Star Ruby tiene un crecimiento lento y compacto y produce frutos esféricos ligeramente achatados, de tamaño medio. La corteza es lisa y delgada, y puede adquirir una tonalidad rojiza en climas cálidos. La pulpa es de color rojo, jugosa, con un sabor suave y un poco de acidez. Además, tiene un jugo de alta calidad y es virtualmente sin semillas (Todoli Citrus Fundació , 2020).



*Ilustración 15 Morfología del Star Ruby. Fuente: Todoli Citrus Fundació*

### **3-2 Métodos de extracción**

#### **3-2-1 Hidrodestilación**

##### **3-2-1-1 Materiales**

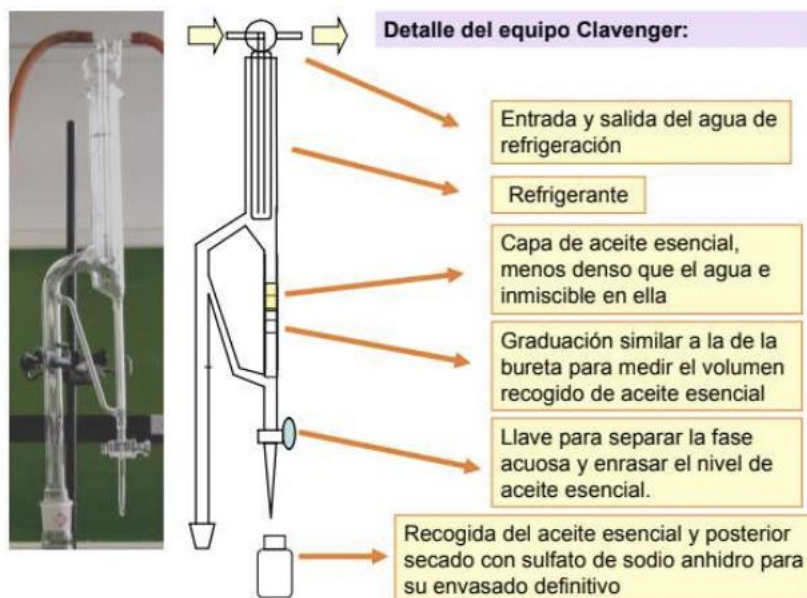
- Equipo Clevenger:
  - o Manta calefactora (Ibxinstruments)
  - o Refrigerante
  - o Equipo de recirculación (PolyScience)
  - o Matraces balón de diferentes tamaños(Vitrafoc)
    - Matraz aforado 500 mL (Labbox)
    - Balanza analítica (Cobos)
    - Bandeja de plástico
    - Triturador doméstico (Braun)
    - Embudo
    - Vasos de precipitado (Labbox)
    - Viales cromatográficos de vidrio (Labbox)
    - Parafilm
    - Agua destilada
    - Sulfato de sodio anhidro (Merck)
    - Pipetas Pasteur
    - Algodón
    - Soporte con nueces y pinzas
    - Micropipeta de 100  $\mu$ L

##### **3-2-1-2 Fundamento físico de la hidrodestilación**

La hidrodestilación es una técnica de destilación basada en el arrastre de vapor de agua, ampliamente utilizada para la separación de componentes volátiles presentes en materia vegetal. En este proceso, la materia vegetal se sumerge en agua, que actúa como un solvente extractante. Posteriormente, la mezcla se lleva a ebullición, permitiendo que el vapor generado arrastre consigo los aceites esenciales presentes en la muestra.



Para llevar a cabo la hidrodestilación, se emplea un dispositivo conocido como Clevenger. Este equipo permite la evaporación de los componentes volátiles y semivolátiles de la mezcla. Mediante el uso de una manta calefactora, se aplica calor al sistema, mientras que en la parte superior del dispositivo se coloca un refrigerante que se mantiene a una temperatura constante de 20°C, gracias a la circulación controlada de agua. Esta refrigeración juega un papel fundamental, ya que previene la fuga de los componentes volátiles del sistema Clevenger, facilitando su posterior condensación y recolección en una bureta.



*Ilustración 16 Equipo Clevenger. Fuente:Elaboración propia*

En la bureta, se lleva a cabo la separación de las fases presentes. La fase hidrófila, compuesta principalmente por agua y otros componentes acuosos, se separa de la fase hidrófoba, la cual contiene los valiosos aceites esenciales y posee una densidad generalmente inferior. Como resultado, la fase hidrófoba se acumula en la parte superior de la bureta, mientras que la fase hidrófila se recircula y retorna al matraz balón, donde se vuelve a calentar, reiniciando así el ciclo de evaporación. Este ciclo permite que el aceite esencial se acumule gradualmente en la bureta a medida que se lleva a cabo la destilación.

### **3-2-1-3 Metodología**

Primero, se utilizó una navaja para cortar la corteza en trozos, los cuales se dividieron equitativamente en tres bandejas. Posteriormente, se pesaron y se trituraron con una batidora manual doméstica con el fin de homogeneizar la mezcla. A continuación, se introdujo la mezcla en un matraz balón junto con aproximadamente 250 mL de agua.

Los matraces fueron conectados al equipo y colocados sobre las mantas de calentamiento. Se inició el calentamiento hasta que la mezcla empezó a hervir. En ese momento, se redujo la temperatura de las mantas para evitar la obstrucción de la bureta.

Las muestras se dejaron en el proceso de hidrodestilación durante 2 horas. Una vez completada la extracción, se recogió el aceite en tubos de ensayo, intentando evitar la inclusión de agua en

la medida de lo posible. Utilizando una pipeta Pasteur, se eliminó la fase acuosa y se procedió a la deshidratación de la muestra mediante el uso de sulfato de sodio anhidro.

Después de deshidratar la muestra, se introdujo un trozo de algodón como filtro, y utilizando la pipeta Pasteur, se extrajo el aceite esencial puro. Posteriormente, se calculó el rendimiento del aceite puro y se colocó en un vial cromatográfico, añadiendo una proporción de 20  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de diclorometano. El vial fue sellado con parafilm y almacenado en refrigeración a 4°C hasta que se realizará el análisis mediante GC-MS.

### **3-2-2 Extracción sólido-líquido**

#### **3-2-2-1 Materiales**

- Agitador orbital Rotabit J.P. SELECTA®.
- Agua destilada
- Balanza analítica
- Diclorometano  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Scharlau)
- Equipo ultrasonidos Elma-S 30 Elmasonic
- Hexano (Scharlau)
- Lana de vidrio
- Parafilm
- Pipetas pasteur
- Rallador de cocina
- Sulfato de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrido (Merck k GaA)
- Tubos de ensayo
- Tubos de centrifuga
- Viales de inserto

#### **3-2-2-2 Metodología**

Se llevó a cabo una extracción del flavedo mediante un proceso de raspado en frío, evitando llegar al albedo, hasta obtener 1g. Para cada variedad, se realizó este procedimiento en tres repeticiones.

Cada gramo se colocó en un tubo de ensayo al que se le añadió 1,5 ml de diclorometano. Luego, el tubo de ensayo se selló con Parafilm y se sumergió en un baño de ultrasonidos con agua fría durante aproximadamente 5 minutos con el fin de incrementar la eficiencia de extracción. Una vez finalizado este tiempo, se retiró la muestra del baño y se agregó una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) hasta obtener un extracto transparente. Por último, se realizó la filtración mediante succión utilizando algodón, y el aceite esencial obtenido se almacenó en un vial cromatográfico sellado, el cual se conservó a una temperatura de 4°C en un refrigerador hasta que sea sometido a análisis posterior.

### 3-3 Análisis de los compuestos obtenidos

Para el análisis cualitativo, la identificación se llevó a cabo por cromatografía de gases y detección por espectroscopía de masas, mientras que para el análisis cuantitativo se utilizó un equipo similar de cromatografía de gases, con el mismo tipo de columna y parámetros de funcionamiento, con detección de ionización de llama.

El análisis de las muestras fue realizado mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) para el análisis cuantitativo y espectrometría de masas (GC-MS).

#### 3-3-1 Análisis GC-FID

Para el análisis cuantitativo se utilizó un cromatógrafo Clarus 500 GC (Perkin-Elmer Inc. Wellesley. PA. EE. UU.) dotado de un detector FID y una columna capilar ZB-5 (30 m × 0,25 mm de diámetro interno × 0,25 µm de espesor de película; Phenomenex Inc. Torrance. CA. EE. UU.). La temperatura del horno de GC se programó de 50°C a 250°C a una velocidad de 3°C min<sup>-1</sup>. Como gas portador se usó el helio (1,2 ml min<sup>-1</sup>). El volumen de inyección fue de 1 µl fijando las temperaturas del inyector y del detector a 250°C. La composición porcentual del aceite esencial fue calculada mediante la medición de las áreas de los picos de GC sin la aplicación de factores de corrección. Este cálculo se llevó a cabo utilizando el software Total Chrom 6.2(Perkin-Elmer Inc., Wellesley. PA. EE. UU.).

#### 3-3-2 Análisis GC- MS

Este análisis se llevó a cabo usando el aparato Clarus 500 GC-MS (Perkin-Elmer Inc.) provisto de la misma columna capilar, del mismo gas portador y de las mismas condiciones operativas empleadas para el análisis GC-FID. Se usó el modo de impacto electrónico de 70 eV y se estableció la temperatura de la fuente de ionización a 200°C. La obtención de los espectros de masas se hizo mediante el modo de barrido de iones totales (TIC) con un rango de masas m/z45-500 uma. Se llevaron a cabo el procesamiento de los cromatogramas de iones totales y el análisis de los espectros de masas utilizando el software Turbomass 5.4 de Perkin-Elmer Inc. Para determinar los índices de retención, se realizó la inyección de estándares de n-alcenos C8-C25 (Supelco, Bellefonte, PE, EE. UU.), bajo las mismas condiciones experimentales.

Se combinaron el cálculo de los índices de retención (LRI) y el análisis mediante GC-MS para la identificación de los picos. Se hizo una comparación entre los espectros de masas de cada pico y los de la biblioteca de espectros de masas (NIST MS 2.0) usando las aplicaciones informáticas AMDIS y Turbomass 2.0. También se calcularon los índices de retención lineales mediante la fórmula:

$$IRL = \left[ \frac{t_{r(\text{desconocido})} - t_{r(n)}}{t_{r(N)} - t_{r(n)}} \right] \cdot (100 \cdot z) + (100 \cdot n)$$

Donde:

- n es el número de átomos de carbono del n-alcano que eluye antes del pico analizado
- N es el número de átomos de carbono del n-alcano que eluye después del pico analizado
- z es la diferencia del número de átomos de carbono de n-alcano entre el que eluye antes del

pico analizado y el de después del pico analizado 16

- tRx es el tiempo de retención del pico analizado
- tRn es el tiempo de retención del n-alcano anterior al pico analizado
- tRN es el tiempo de retención del n-alcano posterior al pico analizado

Método de identificación: Todos los compuestos informados se han identificado mediante la comparación de los datos de GC-MS de la biblioteca informática del NIST y LRI con los informados por R. P. Adams (2007) y otras fuentes bibliográficas indicadas al pie de la tabla de resultados.

### 3-3-3 Análisis estadístico

Se hizo además un estudio estadístico de los datos obtenidos utilizando el programa Statgraphics Centurion XVII. Los resultados obtenidos se analizaron mediante ANOVA (análisis ordinario de la varianza) aplicando el procedimiento de HSD a un nivel de significación de  $p < 0.05$  (prueba de Tuckey). Se consideró como variable el porcentaje de cada compuesto y como factor los diferentes métodos de extracción.

## 4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4-1 Clasificación química de los compuestos identificados

Se detallan en las tablas 1 y 2 los compuestos volátiles totales identificados para ambos tipos de extracción en los 5 híbridos y la variedad de *C. maxima* según su clasificación química. Esta se establece según los siguientes grupos: hidrocarburos monoterpénicos, monoterpenos oxigenados, hidrocarburos oxigenados, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados, aldehídos y alcoholes alifáticos, hidrocarburos alifáticos, ácidos grasos, cumarinas y otros.



Tabla 1 Composición aceites esenciales de los híbridos: Lumia de Valencia, Pummelo Chandler y Star Ruby

			Lumia de Valencia				Pummelo Chandler				Star Ruby			
Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teorico <sup>3</sup>	HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Hidrocarburos Monoterpenos</b>														
$\alpha$ -Tuyeno	924-925	924	-		-		tr	a	-	b	-		-	
$\alpha$ -Pinoeno	931-933	932	0,39±0	a	0,33±0,01	b	0,51±0,01	a	0,26±0,02	b	0,48±0,01	a	0,36±0,04	b
Sabinoeno	971-972	969	0,09±0	a	0,08±0	b	0,52±0,01	a	-	b	0,39±0,15	ab	0,49±0,02	ab
$\beta$ -Pinoeno	976-978	974	tr	ab	tr	ab	2,46±0,08	a	0,26±0,02	b	tr	ab	0,05±0,02	ab
Mirceno	988-990	988	1,74±0,01	a	1,64±0,02	b	1,69±0,01	a	1,1±0,14	b	1,84±0,03	ab	1,65±0	ab
$\alpha$ -Felandreno	1004-1007	1002	-		-		tr	a	-	b	-		-	
$\alpha$ -Terpineo	1012	1014	-		-		-		-		-		-	
Limoneno	1032-1039	1024	95,87±0,22	a	92,7±0,39	b	92,11±0,04	a	69,61±7,18	b	94,68±0,39	a	91,2±0,36	b
$\beta$ -E-Ocimeno	1046-1048	1044	0,31±0,04	b	0,56±0,03	a	tr	a	-	b	0,28±0,1	ab	0,33±0,02	ab
$\gamma$ -Terpineno	1046-1048	1054	-		-		-		-		tr	a	-	b
Terpinoleno	1086-1087	1086	-		tr		-		-		-		-	
<b>Hidrocarburos Oxigenados</b>														
(Z)-Óxido de linalol	1070-1072	1067	tr	ab	tr	ab	tr	a	-	b	0,09±0,01	a	-	b
(E)-Óxido de linalol (furanoid)	1084-1087	1084	tr		-		tr	a	-	b	tr	a	-	b
Linalol	1100-1101	1095	0,08±0	ab	0,09±0,01	ab	0,1±0	ab	0,22±0,05	ab	0,23±0,01	ab	0,14±0,07	ab
(Z)-Óxido de limoneno	1132-1133	1132	0,05±0	a	-	b	-		-		-		-	
(E)-Óxido de limoneno	1136-1138	1137	tr	a	-	b	-		-		-		-	
Terpinen-4-ol	1180-1181	1174	-		-		tr	a	-	b	-		-	
$\alpha$ -Terpineol	1196	1186	tr	ab	tr	ab	tr	b	0,16±0,04	a	tr	ab	tr	ab
Acetato de octanol	1210-1211	1211	tr		-		-		-		-		-	
Nerol	1225-1226	1227	-		-		-		-		-		-	

<i>Tabla 1 (continuación)</i>			Lumia de Valencia				Pummelo Chandler				Star Ruby			
Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teorico <sup>3</sup>	HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Hidrocarburos Oxigenados</b>														
Geraniol	1244-1245	1249	tr	a	-	b	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldehído de perilla	1276-1277	1269	tr	a	-	b	-	-	-	-	-	-	-	-
Propionato de linalilo	1330-1335	1340	-	-	-	-	0,05±0	a	-	b	-	-	-	-
Acetato de α-terpinilo	1345-1346	1346	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de nerilo	1358-1359	1359	tr	ab	tr	ab	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de geranilo	1378-1379	1379	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	ab	tr	ab
<b>Sesquiterpenos</b>														
α-Copaeno	1374-1375	1374	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06±0	ab	0,06±0,03	ab
β-Cubebeno	1386-1387	1387	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06±0	ab	0,06±0,01	ab
β-Cariofileno	1417-1419	1417	0,07±0	b	0,09±0	a	0,08±0	a	-	b	-	-	-	-
β-Copaeno	1427-1429	1430	tr	b	0,06±0	a	0,05±0	b	0,19±0,04	a	-	-	-	-
α-Bergamoteno	1431-1432	1432	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Humuleno	1451-1452	1452	tr	ab	tr	ab	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-β-Farneseno	1453-1455	1454	-	-	-	-	tr	ab	-	ab	0,05±0,01	ab	tr	ab
Germacreno D	1474-1481	1484	tr	b	0,73±0,05	a	1,33±0,05	ab	5,77±2,83	ab	tr	ab	0,07±0,03	ab
Valenceno	1485-1487	1496	0,41±0,01	ab	tr	ab	-	-	-	-	-	-	-	-
Elixeno	1493-1496	1492	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biclogermacreno	1494-1495	1500	0,16±0,01	ab	0,21±0,02	ab	0,2±0,01	b	1,05±0,26	a	tr	ab	tr	ab
β-Bisaboleno	1505	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-α-Bisaboleno	1507	1506	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno A	1505--1507	1508	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Cadineno	1516-1518	1513	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,07±0	ab	0,07±0,03	ab
Selineno <7-epi-α>	1516-1518	1520	-	-	-	-	tr	b	0,08±0,02	a	-	-	-	-
Germacreno B	1557-1558	1559	tr	ab	tr	ab	tr	b	0,08±0,03	a	-	-	-	-

<i>Tabla 1 (continuación)</i>			Lumia de Valencia				Pummelo Chandler				Star Ruby			
Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teorico <sup>3</sup>	HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>														
Germacreno-D-4-ol	1576-1594	1574	-		-		-	b	0,09±0,05	a	-		-	
γ-eudesmol	1633	1630	-		-		-		tr		-		-	
Intermedeol	1656-1665	1665	-		-		-	b	0,08±0,04	a	-		-	
Farnesol 2E, 6Z	1719-1720	1714	-		-		-		tr		-		-	
Nootkatona	1790-1804	1806	-	b	0,16±0,01	a	-	b	3,9±0,87	a	-	b	0,39±0,08	a
<b>Aldehidos y Alcoholes alifáticos</b>														
Octanal	1003-1007	998	tr	a	tr	b	-		-		0,32±0,03	ab	0,38±0,02	ab
Nonanal	1104-1105	1100	tr	ab	tr	ab	-		-		-		-	
Citronelal	1152-1153	1148	-		-		-		-		0,07±0,01	ab	0,05±0,02	ab
Decanal	1206-1207	1201	tr	ab	tr	ab	-		-		0,26±0,02	ab	0,24±0,1	ab
Neral	1239	1235	tr	ab	tr	ab	0,05±0,01	ab	0,05±0,03	ab	tr	ab	tr	ab
Geranial	1269-1270	1264	tr	ab	tr	ab	tr	ab	tr	ab	-		tr	
Dodecanal	1410-1411	1408	tr	ab	tr	ab	tr		-		0,29±0,02	ab	0,36±0,05	ab
1-Octadecanol	2074-2076	2077	-		-		-	b	0,53±0,12	a	-		-	
Docosanal	2424-2433	2430,5	-		-		-	b	0,18±0,02	a	-		-	
Tetracosanal	2636-2637	2632,4	-		-		-	b	1,26±0,05	a	-	b	0,55±0,06	a
Hexacosanal	2849-2850	2833,5	-		-		-		-		-		-	
Octacosanal	2990-2991	3039,7	-		-		-		-		-		-	

<i>Tabla 1 (continuación)</i>			Lumia de Valencia			Pummelo Chandler			Star Ruby			
Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teorico <sup>3</sup>	HR	EXT		HR	EXT		HR	EXT		
<b>Hidrocarburos alifáticos</b>												
Tricosano	2286-2300	2300	-	-		b	2,14±0,36	a	b	0,84±0,05	a	
n-Pentacosano	2483-2498	2500	-	-		b	0,17±0,02	a	-	-		
Escualeno	2823-2824	2835,8	-	-		-	-		-	-		
<b>Ácidos grasos</b>												
Ácido hexadecanoico	1966-1967	1959	-	-		b	0,49±0,13	a	-	-		
Ácido linolénico	2136-2142	2132	-	b	0,13±0,01	a	b	tr	a	b	0,17±0,01	a
<b>Cumarinas y otros compuestos</b>												
Citropteno	1966-1967	1992,8	-	b	tr	a	-		-	b	0,11±0,03	a
Isogeijerina <sup>7</sup>	2224-2226		-	b	0,31±0,02	a	b	0,69±0,1	a	b	0,99±0,18	a
Suberenol	2234-2236	2174	-	-	-		-		-	-		
Epóxido de suberosina <sup>7</sup>	2244-2253		-	-	-		b	1,3±0,21	a	-	tr	
Oxypeucedanina	2483-2487	2500,7	-	b	tr	a	-		-	b	tr	a
Tocoferol	3014	3149,4	-	-	-		-		-	-		

<sup>1</sup> Componentes enumerados en orden de índices de retención lineal (LRI) crecientes para cada grupo de compuestos. Valores expresados como promedio de 3 repeticiones y error estándar.

<sup>2</sup> Intervalo de valores experimentales del índice de retención lineal

<sup>3</sup> Valores bibliográficos de LRI provenientes de Adams, R. P. (2007), excepto los indicados expresamente obtenidos a partir de la información obtenida de la librería NIST

(<https://webbook.nist.gov/cbook>) y otras bases de datos como ChemSpider ([www.chemspider.com](http://www.chemspider.com))

<sup>4</sup> "-" No detectado.

<sup>5</sup> Los valores porcentuales inferiores al 0,05% se indican como tr (trazas).

<sup>6</sup> Los valores con letras diferentes (a,b) para la misma fila son significativamente diferentes y los con (ab) no son significativamente diferentes (prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ )

<sup>7</sup> Identificación tentativa a partir del espectro de masas y LRI experimental

#### **Valores de LRI provenientes del NIST**

Citropteno: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C487069&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Elixeno: Yu, Liao, et al., 2007 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C3242088&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Propionato de linalilo : Isidorov, Krajewska, et al., 2001

(<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C144398&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Tetracosanal: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C57866087&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Escualeno: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C111024&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Oxypeucedanina: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C737520&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Tocoferol: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C59029&Mask=2000#Gas-Chrom>)

#### **Valores de LRI provenientes de : ChemSpider**

Suberenol (<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4524717.html>)

HR: Hidrodestilación

EXT: Extracción sólido líquido

Tabla 2 Composición de los aceites esenciales de los híbridos estudiados: Valentine, Oroblanco y Lumia de Borneo

Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teorico <sup>3</sup>	Valentine				Oroblanco				Lumia de Borneo			
			HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Hidrocarburos Monoterpenos</b>														
$\alpha$ -Tuyeno	924-925	924	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	
$\alpha$ -Pinoeno	931-933	932	0,43±0,01	ab	0,39±0,02	ab	0,46±0,01	a	0,36±0,02	b	0,25±0,03	ab	0,3±0	ab
Sabineno	971-972	969	0,11±0	ab	0,11±0	ab	0,73±0,04	ab	0,53±0,05	ab	0,05±0,01	ab	0,1±0	ab
$\beta$ -Pinoeno	976-978	974	0,14±0,01	ab	0,14±0,01	ab	0,06±0	ab	0,05±0	ab	0,1±0,03	ab	tr	ab
Mirceno	988-990	988	1,74±0,01	ab	1,67±0,03	ab	1,78±0,02	ab	1,67±0,02	ab	1,22±0,01	a	0,8±0	b
$\alpha$ -Felandreno	1004-1007	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
$\alpha$ -Terpineo	1012	1014	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	a	-	b
Limoneno	1032-1039	1024	95,88±0,28	a	92,8±0,65	b	95,02±0,02	a	92,09±0,49	b	49,62±3,22	ab	48,6±1,6	ab
$\beta$ -E-Ocimeno	1046-1048	1044	tr	ab	tr	ab	-	-	-	-	0,63±0,04	a	tr	b
$\gamma$ -Terpineno	1046-1048	1054	-	-	-	-	tr	a	-	b	1,38±0,38	ab	1,4±0,1	ab
Terpinoleno	1086-1087	1086	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13±0,01	a	-	b
<b>Hidrocarburos Oxigenados</b>														
(Z) -Óxido de linalol	1070-1072	1067	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(E) -Óxido de linalol (furanoid)	1084-1087	1084	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Linalol	1100-1101	1095	0,06±0	ab	0,05±0,02	ab	0,07±0	ab	0,13±0,01	ab	32,71±3,22	ab	24±1	ab
(Z) -Óxido de limoneno	1132-1133	1132	-	-	-	-	tr	a	-	b	-	-	-	
(E) -Óxido de limoneno	1136-1138	1137	-	-	-	-	tr	a	-	b	-	-	-	
Terpinen-4-ol	1180-1181	1174	-	-	-	-	0,02±0	a	-	b	-	-	-	
$\alpha$ -Terpineol	1196	1186	tr	ab	0,06±0,01	ab	tr	ab	tr	ab	1,47±0,11	a	-	b
Acetato de octanol	1210-1211	1211	-	-	-	-	tr	a	-	b	-	-	-	
Nerol	1225-1226	1227	-	-	-	-	-	-	-	-	0,31±0,03	a	-	b

Tabla 2 (continuación)

Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teórico <sup>3</sup>	Valentine				Oroblanco				Lumia de Borneo			
			HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Hidrocarburos Oxigenados</b>														
Geraniol	1244-1245	1249	-		-		-		-		-		-	
Aldehído de perilla	1276-1277	1269	-		-		-		-		-		-	
Propionato de linalilo	1330-1335	1340	-		-		-		-		0,06±0	b	0,1±0	a
Acetato de α-terpinilo	1345-1346	1346	-		-		-		-		-		-	
Acetato de nerilo	1358-1359	1359	tr	ab	0,05±0,02	ab	-		-		0,45±0,05	a	0,1±0	b
Acetato de geraniol	1378-1379	1379	-		-		0,05±0	ab	0,09±0,01	ab	0,68±0,09	a	-	b
<b>Sesquiterpenos</b>														
α-Copaeno	1374-1375	1374	-		-		-		-		-		-	
β-Cubebeno	1386-1387	1387	-		-		0,05±0	ab	0,07±0,01	ab	-		-	
β-Cariofileno	1417-1419	1417	-	b	0,06±0,01	a	0,08±0	ab	0,13±0,01	ab	-	b	0,1±0	a
β-Copaeno	1427-1429	1430	0,05±0	b	0,08±0	a	tr	ab	tr	ab	-		-	
α-Bergamoteno	1431-1432	1432	-		-		-		-		0,18±0,01	ab	0,2±0	ab
α-Humuleno	1451-1452	1452	-		-		tr	ab	tr	ab	-		-	
(E)-β-Farneseno	1453-1455	1454	tr	ab	tr	ab	-		-		0,04±0,01	ab	-	ab
Germacreno D	1474-1481	1484	0,1±0,01	b	0,14±0,01	a	tr	ab	0,08±0,01	ab	-		-	
Valenceno	1485-1487	1496	-		-		-		-		-		-	
Elixeno	1493-1496	1492	-		-		tr	ab	tr	ab	-		-	
Biclogermacreno	1494-1495	1500	-		-		-		-		-		-	
β-Bisaboleno	1505	1505	-		-		-		-		0,23±0,03	a	-	b
(Z)-α-Bisaboleno	1507	1506	-		-		-		-		-	b	0,3±0	a
Germacreno A	1505-1507	1508	-	b	tr	a	-		-		-		-	
γ-Cadineno	1516-1518	1513	-		-		0,05±0	ab	0,08±0,01	ab	-		-	
Selineno <7-epi-α>	1516-1518	1520	-		-		-		-		-		-	
Germacreno B	1557-1558	1559	0,16±0,01	b	0,23±0,01	a	-		-		-		-	

Tabla 2 (continuación)

Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teórico <sup>3</sup>	Valentine				Oroblanco				Lumia de Borneo			
			HR		EXT		HR		EXT		HR		EXT	
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>														
Germacreno-D-4-ol	1576-1594	1574	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
γ-eudesmol	1633	1630	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Intermedeol	1656-1665	1665	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Farnesol 2E, 6Z	1719-1720	1714	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Nootkatona	1790-1804	1806	-	b	0,39±0,04	a	tr	b	0,23±0,04	a	-	-	-	
<b>Aldehídos y Alcoholes alifáticos</b>														
Octanal	1003-1007	998	tr	ab	0,05±0	ab	0,51±0,04	ab	0,45±0,02	ab	-	-	-	
Nonanal	1104-1105	1100	-	-	-	-	0,06±0,01	a	-	b	-	-	-	
Citronelal	1152-1153	1148	0,12±0	ab	0,12±0	ab	0,12±0,01	ab	0,16±0,01	ab	-	-	-	
Decanal	1206-1207	1201	-	-	-	-	0,27±0,01	b	0,35±0,03	a	-	-	-	
Neral	1239	1235	tr	-	-	-	tr	ab	tr	ab	0,1±0,01	ab	0,1±0	ab
Geranial	1269-1270	1264	-	-	-	-	tr	ab	tr	ab	0,13±0,01	ab	0,1±0	ab
Dodecanal	1410-1411	1408	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	
1-Octadecanol	2074-2076	2077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Docosanal	2424-2433	2430,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Tetracosanal	2636-2637	2632,4	-	b	0,17±0,02	a	-	b	0,24±0,05	a	-	-	-	
Hexacosanal	2849-2850	2833,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b	0,1±0	a
Octacosanal	2990-2991	3039,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b	0,1±0	a



Tabla 2 (continuación)

Compuestos <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	LRI teórico <sup>3</sup>	Valentine			Oroblanco			Lumia de Borneo					
			HR	EXT		HR	EXT		HR	EXT				
<b>Hidrocarburos alifáticos</b>														
Tricosano	2286-2300	2300	-	b	0,26±0,11	a	-	b	0,76±0,09	a	-	b	0,6±0,1	a
n-Pentacosano	2483-2498	2500	-	b	tr	a	-	b	tr	a	-		-	
Escualeno	2823-2824	2835,8	-		-		-		-		-	b	0,1±0	a
<b>Ácidos grasos</b>														
Ácido hexadecanoico	1966-1967	1959	-	b	0,13±0,01	a	-	b	tr	a	-		-	
Ácido linolénico	2136-2142	2132	-		-		-		-		-	b	0,4±0	a
<b>Cumarinas y otros compuestos</b>														
Citropteno	1966-1967	1992,8	-		-		-		-		-	b	0,1±0	a
Isogeijerina <sup>7</sup>	2224-2226		tr	b	0,14±0,01	a	-	b	0,3±0,04	a	-		-	
Suberenol	2234-2236	2174	tr		-		-		-		-		-	
Epóxido de suberosina <sup>7</sup>	2244-2253		-		-		-		-		-	b	0,9±0,1	a
Oxypeucedanina	2483-2487	2500,7	-		-		-		-		-		-	
Tocoferol	3014	3149,4	-		-		-		-		-	b	0,1±0,1	a

<sup>1</sup> Componentes enumerados en orden de índices de retención lineal (LRI) crecientes para cada grupo de compuestos. Valores expresados como promedio de 3 repeticiones y error estándar.

<sup>2</sup> Intervalo de valores experimentales del índice de retención lineal

<sup>3</sup> Valores bibliográficos de LRI provenientes de Adams, R. P. (2007), excepto los indicados expresamente obtenidos a partir de la información obtenida de la librería NIST

(<https://webbook.nist.gov/cbook>) y otras bases de datos como ChemSpider ([www.chemspider.com](http://www.chemspider.com))

<sup>4</sup> "-" No detectado.

<sup>5</sup> Los valores porcentuales inferiores al 0,05% se indican como tr (trazas).

<sup>6</sup> Los valores con letras diferentes (a,b) para la misma fila son significativamente diferentes y los con (ab) no son significativamente diferentes (prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ )

<sup>7</sup> Identificación tentativa a partir del espectro de masas y LRI experimental

#### **Valores de LRI provenientes del NIST**

Citropteno: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C487069&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Elixeno: Yu, Liao, et al., 2007 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C3242088&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Propionato de linalilo : Isidorov, Krajewska, et al., 2001

(<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C144398&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Tetracosanal: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C57866087&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Escualeno: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C111024&Units=SI&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Oxypeucedanina: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C737520&Mask=2000#Gas-Chrom>)

Tocoferol: Andriamaharavo, 2014 (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C59029&Mask=2000#Gas-Chrom>)

#### **Valores de LRI provenientes de : ChemSpider**

Suberenol (<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4524717.html>)

HR: Hidrodestilación

EXT: Extracción sólido líquido

## 4-2 Hidrodestilación

En las tablas 1 y 2 se presentan los promedios porcentuales para cada uno de los compuestos identificados en los aceites esenciales de las variedades estudiadas. Se identificaron un total de 51 compuestos diferentes en dichos aceites. Entre ellos, destacan 11 hidrocarburos monoterpénicos, los cuales representan entre el 53,4% y el 98,4% del aceite esencial, es decir, casi la totalidad de este. Además, se encontraron 14 monoterpenos oxigenados, 16 sesquiterpenos, 7 aldehídos y alcoholes alifáticos y por último dos compuestos clasificados como cumarinas y otros. El compuesto mayoritario en los aceites esenciales de las variedades estudiadas es el limoneno, que representa entre el 49,6% y el 95,9% del contenido. En segundo lugar, se encuentra el mirceno, presente en cantidades entre el 1,2% y el 1,8%, excepto en la variedad Lumia Borneo (LB), donde se halló otro compuesto mayoritario, el linalool, que alcanza el 32,71% del total identificado. Además, en esta variedad, se encontró también una mayor cantidad del alcohol monoterpénico:  $\alpha$ -terpineol.

## 4-3 Extracción Sólido-líquido (S-L)

Se identificaron un total de 59 compuestos, donde 8 de ellos fueron hidrocarburos monoterpénicos, oscilando entre un 51,2% y un 95,31%, 7 monoterpenos oxigenados, los cuales se encuentran entre un 0,09% y un 24,2%, 16 hidrocarburos sesquiterpénicos cuyos porcentajes varían entre 0,26% y 7,17%, 5 sesquiterpenos oxigenados, y 12 aldehídos y alcoholes alifáticos y 3 hidrocarburos alifáticos, 2 ácidos grasos, 5 cumarinas y otros compuestos.

Del mismo modo que para la hidrodestilación, se destaca la presencia del limoneno como compuesto mayoritario, que se encuentra en un rango del 48,6% al 92,8% del contenido total. En los híbridos Lumia de Valencia, Star Ruby, Valentine y OroBlanco, el mirceno se posiciona como el segundo compuesto predominante, mientras que en el caso del Lumia de Borneo se destaca el linalool con una proporción del 24% del contenido y en el Pummelo Chandler es el Germacreno D, constituyendo un 5,77% del total. Este tipo de extracción ha permitido obtener un porcentaje más elevado de sesquiterpenos (7,17%) y sesquiterpenos oxigenados (4,07%) en el caso de la variedad Pummelo Chandler.

Con la extracción sólido-líquido se han podido identificar nuevos compuestos como es el caso de la nootkatona. Este último se ha identificado en todos los híbridos menos en el Lumia de Borneo y con una cantidad importante en el Pummelo Chandler (3,9%).

## 4-4 Comparación entre los dos tipos de extracción en cada híbrido

Como se ha mencionado anteriormente, han sido identificados más compuestos con la extracción sólido-líquido que con hidrodestilación.

En hidrodestilación, como en extracción S-L, la mayoría de los compuestos son hidrocarburos monoterpenos, sesquiterpenos oxigenados, hidrocarburos alifáticos, ácidos grasos y las cumarinas y otros compuestos solo se identificaron con extracción S-L.

#### 4-4-1 Pummelo Chandler

Se compararon los compuestos obtenidos a partir de los diferentes métodos de extracción descritos anteriormente.

Primero, se identificó una amplia gama de hidrocarburos monoterpénicos utilizando ambos métodos de extracción, aunque se observó que algunos de estos compuestos sólo fueron detectados mediante el proceso de hidrodestilación tal como el sabineno y se detectaron también trazas de  $\alpha$ -tuyeno,  $\alpha$ -felandreno y (*E*)- $\beta$ -ocimeno.

Respecto a los hidrocarburos oxigenados, la hidrodestilación reveló una mayor cantidad de compuestos detectados en comparación con la extracción S-L. Específicamente, a través de la hidrodestilación, se logró la detección de trazas de (*Z*)-óxido de linalool, (*E*)-óxido de linalool (furanóide), terpinen-4-ol, y se identificó además el propionato de linalilo. En contraste, estos compuestos no fueron detectados mediante el proceso de extracción S-L.

En el caso de los sesquiterpenos, la extracción S-L no resultó en la detección de un mayor número de compuestos en comparación con la hidrodestilación. Sin embargo, los compuestos identificados a través de la extracción S-L se encontraron en una cantidad notablemente mayor. Por otro lado, mediante el proceso de hidrodestilación se logró identificar compuestos adicionales que no fueron detectados mediante la extracción SL, incluyendo el  $\beta$ -cariofileno, el (*E*)- $\beta$ -farneseno y el (*Z*)- $\alpha$ -bisaboleno.

En cuanto a los sesquiterpenos oxigenados solo se identificaron compuestos con la extracción S-L. Por ejemplo, la nootkatona, el intermedeol o el gemacreno-D-4-ol.

Respecto a los aldehídos y alcoholes alifáticos, utilizando ambas técnicas de extracción, se pudo detectar el compuesto neral en cantidades equivalentes (0,05%), además de trazas de geranial. Cabe destacar que, mediante el proceso de hidrodestilación, se logró identificar trazas del dodecanal. No obstante, con la extracción S-L, se logró identificar tres compuestos que no fueron detectados con la hidrodestilación: el 1-octadecanol, el docosanal y el tetracosanal.

Únicamente los compuestos tricosano y n-pentacosano fueron identificados mediante el proceso de extracción S-L, en cuanto a los hidrocarburos alifáticos. En contraste, el método de hidrodestilación no permitió la detección de ningún hidrocarburo alifático.

Con la extracción S-L se detectó el ácido hexadecanoico, un ácido graso, y trazas del ácido linoleico, así como otros compuestos tales como, la isogeijerina y el epóxido de suberosina, una cumarina.

En un estudio previo sobre el *C. máxima*, se encontró que el compuesto dominante es el limoneno, que representa el 33,61% de la composición, al igual que en todos los híbridos estudiados, aunque en menor cantidad. Además, se identificaron esteroides, específicamente a-sitosterol (17,99%), b-sitosterol (12,19%), y stigmasterol (5,22%) (Visakh et al., 2022), los cuales no se encontraron en ninguno de los otros híbridos estudiados.

Esto podría ser debido a la técnica utilizada para la extracción, aunque podría ser también debido al periodo de recolección de la fruta y a otros factores climatológicos.

#### 4-4-2 Lumia Valencia

En ambos métodos de extracción, se han detectado los mismos compuestos hidrocarburos monoterpénicos en similar proporción. Únicamente se observaron trazas de terpinoleno en la extracción S-L, mientras que este compuesto no se detectó con el proceso de hidrodestilación. Mediante el proceso de hidrodestilación, se logró identificar una serie de hidrocarburos oxigenados, incluyendo el (*E*)-óxido de linalool, el (*Z*)-óxido de limoneno (0,05%), el (*E*)-óxido de limoneno, el acetato de octanol, el geraniol y el aldehído de perilla. Sin embargo, estos mismos compuestos no fueron detectados en el proceso de extracción S-L. Por otro lado, en el caso de la extracción S-L, se pudo detectar el acetato de  $\alpha$ -terpineol, un monoterpeno oxigenado, el cual no fue identificado en la hidrodestilación.

Los sesquiterpenos detectados mediante el proceso de hidrodestilación coinciden con aquellos identificados a través de la extracción S-L, con la excepción del  $\gamma$ -cadineno, el cual fue específicamente identificado mediante el método de hidrodestilación. Respecto a los sesquiterpenos oxigenados, se constata la detección exclusiva de la nootkatona mediante el proceso de extracción S-L. En cuanto a los aldehídos y alcoholes alifáticos, con los dos tipos de extracción se encontraron trazas de los mismos compuestos. No se identificó la presencia de hidrocarburos alifáticos en ninguno de los dos métodos de extracción empleados. En cuanto a los ácidos grasos, exclusivamente se logró identificar la presencia del ácido linolénico mediante el proceso de extracción S-L. Con la extracción S-L se detectaron unas trazas de citropteno y de oxypeucedanin, y también se identificó la isogeijerina.

La Lumia de Valencia, es un híbrido resultante del cruce entre el pummelo y el limón. Cabe mencionar que el limón, siendo este último un híbrido derivado de la naranja amarga y el cidro, ha sido objeto de estudio previo (Espina et al., 2011). En dicho estudio, se ha confirmado que el componente preponderante en el limón es el limoneno, conformando un considerable 59,10% de su composición. Este mismo compuesto, el limoneno, se ha identificado como el componente principal en el Lumia de Valencia, con una proporción significativa de 95,87%. Asimismo, en el limón se han detectado otros componentes principales, a saber, el  $\gamma$ -terpineno (10,6%), el  $\beta$ -pineno (5,20%) y el *p*-cimeno (3,3%). Sin embargo, estos últimos componentes no han sido identificados en el Lumia de Valencia. Por otra parte, se ha registrado la presencia del  $\beta$ -cariofileno en el limón, representando un 0,99% de su composición, y este mismo compuesto se ha evidenciado en el Lumia de Valencia, aunque en una concentración ligeramente inferior del 0,09%. También, se ha identificado la nootkatona tanto en el limón como en el Lumia de Valencia, ambas con una cantidad de 0,04. Se plantea la hipótesis de que el limón podría haber heredado la nootkatona de la naranja amarga, dado que su progenitor femenino es el citrus maxima, el cual también contiene nootkatona.

El Lumia de Valencia muestra trazas de geraniol, un compuesto presente en el limón y también en la naranja amarga. Esto podría ser debido a que el limón ha heredado este componente de la naranja amarga. Además, el Lumia de Valencia contiene  $\beta$ -cariofileno, presente tanto en el limón como en su parental masculino, el cidro. Se postula la hipótesis de que el limón hereda el  $\beta$ -cariofileno del cidro y lo transmite al Lumia de Valencia.

No obstante, el Lumia de Valencia también revela la presencia de compuestos ausentes en el limón pero presentes en sus parentales; el cidro y la naranja amarga. Entre estos compuestos se encuentran el mirceno, linalool y el decanol. Además, algunos componentes, como el nonanal, acetato de nerilo, dodecanal, germacreno D y el cadineno, son exclusivamente heredados del cidro en el Lumia de Valencia. Los compuestos comunes entre el Lumia de Valencia y sus ancestrales comentados anteriormente se resumen en la tabla 3.

*Tabla 3 Compuestos comunes entre el Lumia de valencia y sus parentales*

<b>Especie</b>	<b>Compuestos comunes</b>	<b>Referencia</b>
Lumia de valencia	-Limoneno - $\beta$ -Pineno	Fuente: propia
Limón	-Geranial - $\beta$ -Cariofileno	Espina et al., 2011
Lumia de valencia	-Limoneno - $\beta$ -Pineno - $\alpha$ -Pineno -Mirceno -Linalool	Fuente: propia
Cidro	-Nonanal -Decanal -Acetato de nerilo -Dodecanal -Cariofileno -Germacreno D -Cadineno	Aliberti et al., 2016
Lumia de valencia	-Limoneno -Pineno	Fuente: propia
Naranjo amargo	-Terpineno -Geranial - $\beta$ -Cariofileno	Tundis et al., 2012 Ammar et al.,2012

En un estudio adicional, se ha detectado la presencia del mirceno en la naranja amarga, constituyendo un 1,8% de su composición. Cabe destacar que el mirceno también se ha observado en el Lumia de Valencia, aunque en este caso, su presencia se registra en una proporción del 1,74%.

#### 4-4-3 Star Ruby

Los compuestos hidrocarburos monoterpénicos identificados coincidieron en ambos métodos de extracción con cantidades aproximadamente equiparables, a excepción del  $\gamma$ -terpineno, el cual fue detectado únicamente a través de la hidrodestilación y no durante el proceso de extracción S-L.

Mediante el método de hidrodestilación se logró identificar dos compuestos hidrocarburos oxigenados adicionales en comparación con la extracción S-L: el (*Z*)-óxido de linalool y el (*E*)-óxido de linalool (furanoides). En cuanto a los sesquiterpenos detectados fueron coincidentes en ambas técnicas de extracción empleadas.

Respecto a los sesquiterpenos oxigenados, al igual que en el caso de Lumia de Valencia, la extracción S-L permitió la identificación exclusiva de la nootkatona como sesquiterpeno oxigenado. Con este método, se logró la identificación de un aldehído, el geranial, y un alcohol, el tetracosanal, que no fueron detectados mediante la hidrodestilación. Además de un ácido graso detectable mediante este método, y de manera exclusiva, que fue el ácido linolénico. Se identificaron otros compuestos con la extracción S-L, tal como el citropteno y la isogeijerina. Y por último, solo se identificó un hidrocarburo alifático, el tricosano, con la extracción S-L.

El Star Ruby es el híbrido más elemental en la selección, siendo el resultado de un simple cruce entre un pummelo y un naranjo. En otro análisis, se observó la presencia de nootkatona en cantidades prácticamente idénticas a las encontradas en nuestro estudio (0,39%). ([Ortuño et al., 1995](#))

#### 4-4-4 Valentine

La identificación de los hidrocarburos monoterpénicos resultó concordante en ambos tipos de extracción utilizados, ya que se identificaron los mismos hidrocarburos oxigenados con los dos tipos de extracción. Ambos métodos revelaron la detección de otros compuestos como la isogeijerina. No obstante, el suberenol sólo fue detectado mediante el proceso de hidrodestilación.

Mediante el proceso de extracción S-L, se logró la identificación de dos compuestos sesquiterpenos que no se detectaron con la técnica de hidrodestilación: el  $\beta$ -cariofileno y el germacreno A. Al igual que en los dos híbridos previos, se constató la presencia única de la nootkatona como un compuesto sesquiterpeno oxigenado mediante el proceso de extracción S-L.

Mediante el método de hidrodestilación se logró la detección del aldehído neral, en contraste con la extracción S-L donde este compuesto no fue identificado. Por otro lado, la extracción S-L permitió la detección del tetracosanal, un alcohol, el cual no fue detectado mediante la hidrodestilación. Con este método se logró, también, la identificación de los compuestos hidrocarburos alifáticos tal como, el tricosano y el *n*-pentacosano. Por último, se detectaron también trazas de un ácido graso, el ácido hexadecanoico con la extracción S-L.

En la tabla siguiente se muestran los compuestos comunes entre el híbrido Valentine y sus parentales.

*Tabla 4 Compuestos comunes entre el Valentine y sus parentales*

<b>Especie</b>	<b>Compuestos comunes</b>	<b>Referencia</b>
Valentine	-Limoneno -Mirceno	Fuente: propia
Tangor	- $\alpha$ -Pineno - $\beta$ -Pineno -Linalool -Citronelal -Neral	Park et al., 2023
Valentine	-Lianool -Limoneno - $\alpha$ -Pineno	Fuente: propia
Mandarina		Márquez, 2003
Valentine	-Limoneno -Mirceno	Fuente: propia
Naranja dulce	-Sabineno -Linalool	Singh et al., 2021

La tabla anterior resalta la presencia exclusiva de citronelal en el tangor, que es el resultado del cruce entre el mandarina y el naranja (parentales del Valentine), así como en el Valentine. Esto sugiere que es probable que el Valentine haya heredado el citronelal del tangor.

#### **4-4-5 Oroblanco**

Mediante los dos métodos estudiados en el presente trabajo, se logró la identificación, en el caso del Oroblanco, de los compuestos hidrocarburos monoterpénicos idénticos en cantidades casi equiparables, a excepción del  $\gamma$ -terpineno, el cual fue detectado mediante el proceso de hidrodestilación, pero no mediante la extracción S-L. De igual manera se identificaron los mismos compuestos sesquiterpenos con los dos tipos de extracción. En este caso, igual que las



variedades anteriores, también sólo se detectó la nootkatona (sesquiterpeno oxigenado) mediante la extracción SL.

Los aldehídos detectados mediante el método de hidrodestilación son, el nonanal y dodecanal. Estos últimos compuestos no fueron identificados mediante la extracción S-L. Por otro lado, con la extracción S-L, se detectó el tetracosanal, un alcohol, en contraste con la hidrodestilación donde este compuesto no fue identificado.

Únicamente se logró la identificación de dos hidrocarburos alifáticos del tricosano y el n-pentacosano a través de la extracción S-L. En contraste, no se detectó ningún compuesto mediante el proceso de hidrodestilación. También se identificó la presencia de otro compuesto, la isogeijerina mediante el proceso de extracción S-L.

Cabe destacar que, mediante el proceso de hidrodestilación, se logró identificar trazas de hidrocarburos oxigenados, como el (*Z*)-óxido de limoneno, (*E*)-óxido de limoneno, acetato de octanol y se pudo detectar, además, el terpinen-4-ol. Sin embargo, estos compuestos no fueron detectados a través del método de extracción S-L. Por último, con la extracción S-L, se detectaron trazas de ácidos grasos grasos, concretamente, el ácido hexadecanoico.

El Oroblanco, se trata de un híbrido que resulta de la combinación entre el pummelo y otro híbrido previo, el Star Ruby. En el presente estudio, se ha notado una notable similitud en los compuestos presentes en el Oroblanco y el Star Ruby. Específicamente, se han identificado los mismos hidrocarburos monoterpénicos en cantidades similares en ambos híbridos. Los monoterpenos predominantes en ambos casos son el limoneno y el mirceno. Además, se ha constatado la producción de nootkatona, un compuesto presente en los dos parentales del Oroblanco.

Se postula que la producción de nootkatona en el Oroblanco es el resultado de la herencia genética de sus dos parentales, ambos capaces de producir este compuesto. Esta transmisión de la capacidad de sintetizar nootkatona sugiere que existe una base genética sólida para la producción de este compuesto en el Oroblanco.

#### **4-4-6 Lumia Borneo**

Se identificaron los mismos compuestos hidrocarburos monoterpénicos con los dos tipos de extracción en cantidades más o menos parecidas, excepto el  $\alpha$ -tuyeno,  $\alpha$ -terpineol y el terpinoleno los cuales se detectaron con la hidrodestilación y no con la extracción S-L.

Además, con la hidrodestilación se encontraron el  $\alpha$ -terpineol, el nerol y el acetato de geranilo, como hidrocarburos oxigenados los cuales no fueron detectados con la extracción S-L. Por otro lado, la hidrodestilación permitió la detección del (*E*)- $\beta$ -farneseno y el  $\beta$ -bisaboleno, compuestos que no se identificaron mediante el proceso de extracción S-L.

Sin embargo, mediante la extracción S-L, se logró detectar la presencia de sesquiterpenos; el  $\beta$ -cariofileno y el (*Z*)- $\alpha$ -Bisaboleno. Y también, se alcanzó la detección de aldehídos; hexacosanal y octacosanal, dos compuestos que no fueron identificados a través del proceso de hidrodestilación. Por otra parte, no se logró detectar sesquiterpenos oxigenados mediante ninguno de los métodos de extracción utilizados.

En cuanto a los hidrocarburos alifáticos, solo se identificaron compuestos con la extracción S-L, y estos compuestos son el tricosano y el escualeno. Se detectó mediante la extracción S-L también, un ácido graso, el ácido linolénico. Además de otros compuestos de mayor masa molar tales como el citropteno, el epóxido de suberosina y el tocoferol, los cuales no fueron detectados con la hidrodestilación.

El Lumia de Borneo es el resultado de un interesante cruce entre la lima mexicana y el pummelo. En investigaciones previas centradas en la lima mexicana, se observó que contenía una notable cantidad de  $\gamma$ -terpineno, específicamente un 16.5%. (Costa et al., 2014). En nuestro estudio del Lumia de Borneo, identificamos la presencia de  $\gamma$ -terpineno, aunque en cantidades reducidas. De hecho, este compuesto no se encontró en ninguna de las otras variedades examinadas. Esto nos lleva a concluir que la presencia del  $\gamma$ -terpineno en el Lumia de Borneo se debe al parentesco masculino de la lima mexicana en su composición genética. Los análisis revelaron que el aceite esencial del Lumia de Borneo contiene una cantidad significativa de linalool, a pesar de que ninguno de sus parentales individuales tenía una concentración tan alta de este compuesto. En consecuencia, se puede concluir que el Lumia de Borneo tiene el potencial de ser una fuente valiosa de linalool, lo que podría tener aplicaciones en diversas industrias.

*Tabla 5 Compuestos comunes entre el Lumia de borneo y sus parentales*

Espece	Compuestos comunes	Referencia
Lumia de borneo	-Limoneno - $\alpha$ -Pineno - $\beta$ -pineno	Fuente: propia
Lima mexicana	- $\gamma$ - Terpineno -Linalool	Tundis et al., 2012
Lumia de borneo	-Limoneno - $\beta$ -Pineno - $\alpha$ -Pineno -Mirceno -Linalool -Acetato de nerilo	Fuente: elaboración propia
Cidro	-Nerol - Cariofileno - $\beta$ -Bergamoteno - $\beta$ -Bisaboleno	Aliberti et al., 2016
Lumia de borneo	- $\alpha$ -Pineno -Limoneno -Sabineno -Mirceno - $\beta$ -E-Ocimeno	Fuente: propia
Papeda	-Linalool - $\alpha$ -Terpineol - Acetato de geranilo	Lara Flores, 2023

## 5- CONCLUSIONES

1. En el presente trabajo, se han identificado los diferentes compuestos de los aceites esenciales producidos por hidrodestilación y de los extractos obtenidos por extracción S-L, de los diferentes híbridos y la variedad del Pummelo. La comparación de los resultados ha permitido concluir que la mayoría de los métodos de extracción descritos en la bibliografía basados en el empleo de la hidrodestilación ocasionan cambios significativos en los compuestos analizados ya que el agua a 100° C puede tener una actividad química importante. Por otra parte, no están presentes en el aceite esencial muchos compuestos de elevada masa molar. Sin embargo, la extracción S-L a temperaturas más bajas ha permitido identificar una amplia gama de compuestos no identificados al aplicar la hidrodestilación, debido a su menor volatilidad relativa. Esta diferencia es especialmente importante cuando el objetivo es el análisis detallado, cualitativo y cuantitativo, de la composición, como sucede en este trabajo.

Así pues, este estudio ha permitido evidenciar que la técnica de extracción sólido-líquido es el método más idóneo para obtener extractos con un espectro más amplio de compuestos potencialmente útiles.

2. Los resultados obtenidos indican, y por primera vez, la posibilidad de identificar un patrón de aceites esenciales en el Oroblanco (*C. maxima* x *C. paradisi*), el Lumia de Borneo (*C. maxima* x (*C. ichangensis* x *C. medica*)), el Lumia de Valencia (*C. maxima* x (*C. aurantium* x *C. medica*)), el Pummelo Valentine (*C. maxima* x (*C. sinensis* x *C. reticulata*)), el Pomelo Chandler (*Citrus maxima*), y el Pomelo Star ruby (*Citrus paradisi* Macf) lo que representa una contribución original y significativa en esta área. En relación a esto, sería conveniente profundizar más en estudios posteriores.
3. Por último, el pummelo ha transmitido la capacidad de producir nootkatona a la mayoría de sus descendientes, excepto a la lumia de borneo.

### **Objetivos y metas de desarrollo sostenible:**

- ODS 2: Hambre cero: Los compuestos bioactivos de los aceites esenciales tienen una cierta actividad antimicrobiana y antioxidante que permite conservar los productos alimentarios alargando su vida útil, lo que permitirá evitar pérdidas económicas.
- ODS 3: Salud y bienestar: Los aceites esenciales tienen muchas aplicaciones en la medicina natural y pueden contribuir al bienestar humano y la salud, como por ejemplo en aromaterapia.
- ODS 9: Industria, Innovación e Infraestructuras: Desarrollo de nuevas tecnologías y procesos en la industria de la cosmética, la farmacéutica y la alimentaria.
- ODS 12: Producción y consumo responsables: Aprovechamiento de subproductos.

## 6- BIBLIOGRAFÍA

ALIBERTI, L., CAPUTO, L., DE FEO, V., DE MARTINO, L., NAZZARO, F., & SOUZA, L. F. (2016). Chemical composition and in vitro antimicrobial, cytotoxic, and central nervous system activities of the essential oils of *Citrus medica* L. cv. 'Liscia' and *C. medica* cv. 'Rugosa' cultivated in Southern Italy. *Molecules*, 21(9), 1244.

AMMAR, A. H., BOUJILA, J., LEBRIHI, A., MATHIEU, F., ROMDHANE, M., & ZAGROUBA, F. (2012). Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (Neroli oil). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(21), pp-1034.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

BRUNETON, J. (2001). *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales* (No. 615.321 B785F 2001.). España: Acribia.

BUETTNER, A.; SCHIEBERLE, P. (2001). *Evaluation of Aroma Differences between Hand-Squeezed Juices from Valencia Late and Navel Oranges by Quantitation of Key Odorants and Flavor Reconstitution Experiments*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(5), pp. 2387–2394.

CHAVEZ, M. G. C. (2007). Hidrodestilación De Aceites Esenciales. Modelado Y Caracterización. Obtenido de: [https://oa.upm.es/49669/1/TFG\\_IRENE\\_CASADO\\_VILLAVERDE.pdf](https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf)

COSTA, R., BISIGNANO, C., FILOCAMO, A., GRASSO, E., OCCHIUTO, F., & SPADARO, F. (2014). Antimicrobial activity and chemical composition of *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle essential oil from Italian organic crops. *Journal of Essential Oil Research*, 26(6), 400-408.

ESCOBAR FLORES, K. D. (2018). Exploración de la reactividad química de los metabolitos obtenidos de la *Bursera multijuga*. National Institute of Water and Atmospheric Sciences, Ltd., Wellington 6021, New Zealand

ESPINA, L., SOMOLINOS, M., LORÁN, S., CONCHELLO, P., GARCÍA, D., & PAGÁN, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food control*, 22(6), 896-902.

FRAATZ, M. A., BERGER, R. G., & ZORN, H. (2009). Nootkatone—a biotechnological challenge. *Applied microbiology and biotechnology*, 83(1), 35-41.

GALLART MARTÍNEZ, F. (2021). Composición de los aceites esenciales de la corteza de diferentes variedades de *Citrus medica* L. Influencia del grado de maduración. (Trabajo Fin de Máster: ETSIAMN, Universitat Politècnica de Valencia)

GUTIERREZ BOUZAN, M., & DROGUET, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Gutiérrez, MC; Droguet, M." La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor". Boletín Intexter, juliol 2002, núm. 122, p. 35-41*

LARA FLORES, A. M. (2023). *Composición de aceites esenciales de la corteza y hojas de diferentes variedades de cítricos del grupo de las Papedas* (Trabajo Fin de Grado: ETSIAMN, Universitat Politècnica de València).

- LLORENS- MOLINA, J.A. (2021). *Análisis de aceites esenciales*. Documento interno (Instituto agroforestal mediterráneo. Universitat Politècnica de Valencia)
- LURO, F. (2015). L'origine des agrumes : Leur évolution et La naissance des espèces cultivées. *Histoire de plantes - Jardins de France 636 - Juillet-août 2015* ([https://www.jardinsdefrance.org/wp-content/uploads/2018/01/JdF636\\_3\\_histoire-de-plantes.pdf](https://www.jardinsdefrance.org/wp-content/uploads/2018/01/JdF636_3_histoire-de-plantes.pdf)) consulta : 1 Julio 2022
- LURO, F.; CURK, F.; FROELICHER, Y.; OLLITRAULT, P. (2017). *Recent insights on Citrus diversity and phylogeny*. En Zech-Matterne, V., Fiorentino, G. (Eds.), *AGRUMED: Archaeology and history of citrus fruit in the Mediterranean: Acclimatization, diversifications, uses*. Naples: Publications du Centre Jean Bérard.
- MACLEOD JR, W. D., & BUIGUES, N. M. (1964). Sesquiterpenes. I. Nootkatone, a new grapefruit flavor constituent. *Journal of Food Science*, 29(5), 565-568.
- MÁRQUEZ, L. D. L. A. (2003). *Extracción del aceite esencial de mandarina (Citrus reticulata) utilizando dióxido de carbono en condición supercrítica como solvente* (Bachelor's thesis): Universidad Central de Venezuela.
- MARTÍNEZ, A. (1996). Aceites esenciales. *J. Nat. Prod*, 59(1), 77-79.
- MILIND, S. L. (2008). Citrus fruit: biology, technology and evaluation. *London WC1X 8RR, UK: Elsevier*, 1-4.
- MONTOYA PAVI, S. A., & PÁEZ VALENCIA, C. A. (2012). *Documentación de la técnica de cromatografía de gases en el análisis de hidrocarburos alifáticos en aguas residuales*. (Bachelor's thesis): Universidad Tecnológica de Pereira
- MOLINA, J. A. L. (2021). Los aceites esenciales y su actividad biológica: Una propuesta didáctica. *Anales de Química de la RSEQ*, (2), 165-170.
- ORTIZ MARCIDE, J. M. (1986). Nomenclatura botánica de los cítricos. *Fruits*, 41(3), 199-209.
- ORTUÑO, A., GARCIA-PUIG, D., FUSTER, M. D., PEREZ, M. L., SABATER, F., PORRAS, I., ... & DEL RIO, J. A. (1995). Flavanone and nootkatone levels in different varieties of grapefruit and pummelo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 1-5.
- OUAZZOU, A. A. (2012). *Caracterización de aceites esenciales de plantas aromáticas de origen mediterráneo y evaluación de su actividad antimicrobiana en combinación con otros métodos de conservación de alimentos* (Doctoral dissertation, Universidad de Zaragoza)
- PARK, M. K., CHA, J. Y., KANG, M. C., JANG, H. W., & CHOI, Y. S. (2023). The effects of different extraction methods on essential oils from orange and tangor: From the peel to the essential oil. *Food Science & Nutrition*.
- PREEDY, V. R. (ED.). (2015). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press.
- SINGH, B., SINGH, J. P., KAUR, A., & YADAV, M. P. (2021). Insights into the chemical composition and bioactivities of citrus peel essential oils. *Food Research International*, 143, 110231.

SOOST, RK Y CAMERON, JW (1980). 'Oroblanco', un híbrido Triploide de Pomelo-Toronja1. *HortScience* , 15 (5), 667-669.

TUNDIS, R., LOIZZO, M. R., BONESI, M., MENICHINI, F., MASTELLONE, V., COLICA, C., & MENICHINI, F. (2012). Comparative study on the antioxidant capacity and cholinesterase inhibitory activity of Citrus aurantifolia Swingle, C. aurantium L., and C. bergamia Risso and Poit. peel essential oils. *Journal of food science*, 77(1), H40-H46.

VISAKH, N. U., PATHROSE, B., NARAYANANKUTTY, A., ALFARHAN, A., & RAMESH, V. (2022). Utilization of pomelo (Citrus maxima) peel waste into bioactive essential oils: Chemical composition and insecticidal properties. *Insects*, 13(5), 480.

ZELLNER, B. D. A., DUGO, P., DUGO, G., & MONDELLO, L. (2010). Analysis of essential oils. *Essential*, 151.

Paginas web:

Statista 2023: <https://es.statista.com/> consulta: 5 de Mayo 2023

Businesscoot 2023: <https://www.businesscoot.com/es/> consulta: 5 mayo 2023

Unidad informática de instituto químico : <https://uniiquim.iquimica.unam.mx/> consulta: 24 de Agosto 2022

Todoli citrus fundació: <https://todolicitrusfundacio.org/es/> consulta: 18 marzo 2022