



**Universidad Autónoma de Querétaro**

**Facultad de Química**

**DESTILACIÓN EN CONTINUO POR ARRASTRE DE VAPOR Y  
CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DEL LIMÓN  
MEXICANO (*Citrus aurantifolia*) Y SU INCORPORACIÓN EN UN  
HELADO**

**TESIS**

**Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestro en  
Ciencias y Tecnología de Alimentos**

**Presenta**

**Lic. Pahua Angel Tania**

**Dirigido por:**

**Dra. Silvia Lorena Amaya Llano**

**Co-Director:**

**Dr. José Daniel Padilla de la Rosa**

Querétaro, Qro. Febrero 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de  
Información



DESTILACIÓN EN CONTINUO POR ARRASTRE DE VAPOR Y  
CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DEL LIMÓN  
MEXICANO (*Citrus aurantifolia*) Y SU INCORPORACIÓN  
EN UN HELADO

**por**

Tania Pahua Angel

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

**Clave RI:** FQMAC-300242-0323-223



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Química**  
**Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**DESTILACIÓN EN CONTINUO POR ARRASTRE DE VAPOR Y CARACTERIZACIÓN  
DE ACEITES ESENCIALES DEL LIMÓN MEXICANO (*Citrus aurantifolia*) Y SU  
INCORPORACIÓN EN UN HELADO**

**TESIS**

**Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestro en Ciencias y  
Tecnología de Alimentos**

**Presenta**

**Tania Pahua Angel**

**Dirigido por:**

**Dra. Silvia Lorena Amaya Llano**

**Co-dirigido por:**

**Dr. José Daniel Padilla de la Rosa**

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. José Daniel Padilla de la Rosa  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Mirna Estarrón Espinosa  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Directora de la Facultad

\_\_\_\_\_  
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
28 de febrero 2023  
México

## DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual desarrolló y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentada en el documento.



---

Pahua Angel Tania

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para la realización de los estudios de posgrado a través de la beca 768876.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República.

A CIATEJ por brindarme un espacio para desarrollarme y permitirme el uso de sus instalaciones y equipos.

Al Dr. José Daniel Padilla de la Rosa por permitirme integrarme a su proyecto de investigación y por su apoyo para la realización del proyecto.

A la Dra. Mirna Estarrón Espinosa que fue parte fundamental para la realización de mi proyecto y su continua asesoría en la realización esta tesis.

A la Dra. Silvia Lorena Amaya y al Dr. Eduardo Castaño por guiarme y aconsejarme a lo largo de la realización del proyecto y que sin su apoyo y diligencia el proyecto no hubiera sido completado satisfactoriamente.

A mis papás por estar conmigo en todo momento brindándome su amor y cariño, por aconsejarme y apoyarme a seguir luchando para cumplir mis metas.

A mi hermana por siempre creer en mí, porque ese voto que tiene conmigo me ha impulsado a explorar y aventurarme para cumplir mis metas.

A Alejandro Velázquez Rodríguez por su paciencia, por su apoyo en el laboratorio, por ser un buen amigo y alentarme a seguir adelante en las buenas y en las malas.

A mis compañeras y amigas Laura y Vanessa por el apoyo brindando a lo largo de la maestría, por sus consejos y por su paciencia.

A Jaime Rosalio por compartir su experiencia y aconsejarme a lo largo del desarrollo del presente trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN .....	xvii
SUMMARY.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Historia.....	3
2.2. Los aceites esenciales.....	4
2.2.1. Terpenos .....	6
2.2.2. Fenoles.....	7
2.2.3. Resinas.....	8
2.2.4. Clasificación de los aceites esenciales .....	8
2.2.5. Distribución y estado natural .....	9
2.2.6. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales.....	9
2.2.7. Parámetros analíticos empleados en el control de calidad de aceites esenciales.....	10
2.2.8. Índices químicos .....	10
2.2.9. Propiedades cromatográficas.....	10
2.2.10. Propiedades espectrales .....	11
2.2.11. Determinaciones físicas.....	11
2.2.11.1. Densidad.....	11
2.2.11.2. Índice de refracción .....	11
2.2.11.3. Poder rotatorio.....	11
2.3. Extracción y aislamiento.....	12
2.4. Extracción con solventes.....	12

2.5. Método de enflorado o enfleurage .....	13
2.6. Fluidos supercríticos.....	13
2.7. Destilación.....	13
2.7.1. Hidrodestilación.....	16
2.7.2. Destilación con agua y vapor.....	16
2.7.3. Destilación por arrastre con vapor.....	16
2.7.3.1. Componentes del equipo de destilación por arrastre de vapor ...	17
2.7.4. Destilación fraccionada.....	18
2.7.5. Destilación por lote.....	21
2.7.6. Destilación en continuo por arrastre con vapor .....	21
2.8. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.....	22
2.9. El limón como materia prima para la extracción de aceite esencial .....	24
2.9.1. Generalidades .....	24
2.9.2. Producción de limón .....	24
2.9.3. Aspectos generales del limón.....	25
2.9.3.1. Flavedo .....	25
2.9.3.2. Albedo .....	26
2.9.3.3. Endocarpio.....	26
2.9.4. Jugo de limón .....	26
2.9.5. Variedades de limón en México .....	27
2.9.5.1. Limón persa .....	27
2.9.5.2. Limón mexicano.....	29
2.9.5.3. Principales regiones de cultivo de limón mexicano.....	29
2.9.5.4. El limón mexicano como insumo industrial.....	30
2.9.6. Aceite esencial de limón .....	30
2.9.7. Terpenos .....	31
2.9.7.1. $\alpha$ -Pineno .....	32
2.9.7.2. $\beta$ -Pineno.....	33
2.9.7.3. $\beta$ -Felandreno.....	33
2.9.7.4. p-Cimeno.....	34
2.9.7.5. Limoneno .....	35
2.9.7.6. Aldehídos .....	35
2.9.7.7. Citral.....	36
2.9.7.8. Citronelal.....	37
2.9.7.9. Cetonas.....	37
2.9.7.10. Alcoholes .....	38

2.9.8.	Usos de los aceites esenciales de cítricos.....	38
2.9.9.	Actividad antimicrobiana de aceite esencial de limón .....	39
2.10.	Elaboración de una base de helado y su calidad microbiológica .....	39
2.10.1.	Incorporación del aceite esencial de limón en una base de helado como agente antimicrobiano .....	41
III.	JUSTIFICACIÓN .....	43
IV.	OBJETIVOS .....	45
4.1.	Objetivo general.....	45
4.2.	Objetivos específicos.....	45
V.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	46
5.1.	Materiales.....	46
5.1.1.	Reactivos y medios de cultivo .....	46
5.1.2.	Material biológico .....	46
5.2.	Métodos.....	46
5.2.1.	Extracción del aceite esencial .....	46
5.2.2.	Pretratamiento de la materia prima .....	48
5.2.2.1.	Peso promedio de cada arpilla de limón.....	48
5.2.2.2.	Operación de lavado .....	48
5.2.3.	Acondicionamiento de la materia prima .....	49
5.2.3.1.	Prensado en helicoide .....	49
5.2.3.2.	Determinación del contenido promedio de aceite esencial.....	50
5.3.	Destilación.....	51
5.3.1.	Destilación en continuo por arrastre con vapor .....	51
5.3.2.	Destilación en lote por arrastre con vapor a escala laboratorio .....	54
5.3.3.	Balance de masa del proceso de destilación.....	55
5.3.4.	Rendimiento del aceite esencial de limón.....	56
5.3.5.	Caracterización fisicoquímica del aceite esencial .....	57
5.3.5.1.	Determinación de la densidad relativa.....	57
5.3.5.2.	Determinación del índice de refracción.....	58
5.3.5.3.	Determinación del poder rotatorio.....	59
5.3.6.	Caracterización cromatográfica del aceite esencial .....	61
5.4.	Análisis microbiológico .....	62

5.4.1.	Preparación de las diferentes concentraciones de aceite esencial para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón	62
5.4.2.	Preparación del inóculo .....	63
5.4.3.	Actividad antimicrobiana in vitro .....	63
5.5.	Elaboración del helado .....	64
5.5.1.	Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón en el helado inoculado con <i>L. innocua</i> .....	65
5.6.	Diseño experimental .....	66
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	69
6.1.	Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna. ....	69
6.2.	Rendimiento del aceite esencial por destilación en continuo con columna y sin columna .....	73
6.3.	Rendimiento de aceite esencial por fracción .....	76
6.4.	Análisis fisicoquímico del aceite esencial de limón mexicano ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) obtenido de la destilación en continuo sin y con columna y por destilación por lote. ....	79
6.4.1.	Densidad .....	79
6.4.2.	Índice de refracción.....	82
6.4.3.	Rotación óptica .....	85
6.5.	Composición química del aceite esencial de limón mexicano ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) obtenido de la destilación en continuo sin columna, con columna y destilación en lote. ....	88
6.5.1.	Concentración de $\alpha$ -pineno.....	89
6.5.2.	Concentración de $\beta$ -pineno.....	91
6.5.3.	Concentración de $\alpha$ -terpineno .....	93
6.5.4.	Concentración de D-limoneno .....	95
6.5.5.	Concentración de $\gamma$ -terpineno .....	98
6.5.6.	Concentración de linalol. ....	100
6.5.7.	Concentración de $\alpha$ -terpineol .....	102
6.6.	Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de limón mexicano ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) contra <i>Listeria innocua</i> . ....	104

6.7. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón mexicano contra Listeria innocua en una base de helado. ....	108
VII. CONCLUSIONES.....	112
VIII. REFERENCIAS.....	113
IX. ANEXOS.....	126
9.1. ANEXO I.....	126
9.2. ANEXO II.....	129
9.3. ANEXO III.....	147

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Clasificación botánica del limón.....	26
Tabla 2.2 Composición del jugo de limón (por cada 100g).....	27
Tabla 2.3 Clasificación y descripción botánica del limón persa.....	28
Tabla 2.4 Clasificación y descripción botánica del limón mexicano. ....	29
Tabla 2.5 Principales compuestos identificados en el aceite esencial de limón. ...	31
Tabla 5.1 Características del proceso de destilación en continuo sin columna. ....	53
Tabla 5.2 Características del proceso de destilación en continuo con columna....	53
Tabla 5.3 Características del proceso de destilación en lote a nivel laboratorio....	54
Tabla 5.4 Concentraciones de aceite esencial para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón. ....	62
Tabla 5.5 Preparación del helado inoculado con <i>L. innocua</i> y esencial de limón..	64
Tabla 5.6 Tiempo de incubación de <i>L. innocua</i> en el helado durante el almacenamiento en congelación a -18°C. ....	65
Tabla 5.7 Diseño trifactorial anidado. ....	67
Tabla 5.8. Diseño trifactorial.....	68
Tabla 6.1 Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna. ....	69

Tabla 6.2 Rendimiento por tratamiento del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna. ....	73
Tabla 6.3 Rendimiento por fracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.....	76
Tabla 6.4 Densidad relativa del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.....	79
Tabla 6.5 Índice de refracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna. ....	82
Tabla 6.6 Rotación óptica del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna. ....	85
Tabla 6.7 Concentración de $\alpha$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	89
Tabla 6.8 Concentración de $\beta$ -pineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	91
Tabla 6.9 Concentración de $\alpha$ -terpineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	93
Tabla 6.10 Concentración de D-limoneno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	95
Tabla 6.11 Concentración de $\gamma$ -terpineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	98
Tabla 6.12 Concentración de linalol del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	100

Tabla 6.13 Concentración de $\alpha$ -terpineol del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor. ....	102
Tabla 6.14 Resultados de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de limón mexicano ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) contra <i>L. innocua</i> . ....	105
Tabla 6.15 El efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón mexicano ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) contra la supervivencia de <i>L. innocua</i> en una base de helado.....	109

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Metabolismo de compuestos secundarios (Troncoso <i>et al.</i> , 2012).....	5
Figura 2.2 Síntesis de terpenos y clasificación según las unidades de isopreno (Avalos- García & Pérez-Urrutia, 2009).....	7
Figura 2.3 Equipo de destilación.....	18
Figura 2.4 Columna empacada.....	19
Figura 2.5 Estructura química de los terpenos.....	32
Figura 2.6 Estructura química del $\alpha$ -Pinoeno.....	32
Figura 2.7 Estructura química del $\beta$ -Pinoeno.....	33
Figura 2.8 Estructura química del $\beta$ -Felandreno.....	34
Figura 2.9 Estructura química del p-Cimeno.....	34
Figura 2.10 Estructura química del Limoneno.....	35
Figura 2.11 Estructura química de los Aldehídos.....	36
Figura 2.12 Estructura química del Geranial y Neral.....	36
Figura 2.13 Estructura química del Citronelal.....	37
Figura 2.14 Estructura química de las Cetonas.....	37
Figura 2.15 Estructura química de los Alcoholes.....	38
Figura 5.1 Metodología general para la destilación en continuo con y sin columna.....	47
Figura 5.2 Metodología general para la destilación en lote.....	48

Figura 5.3 Prensa helicoidal localizada en CIATEJ, imagen obtenida de Huerta (2009).....	49
Figura 5.4 Hidrodestilación a nivel laboratorio. ....	50
Figura 5.5 Bomba peristáltica.....	52
Figura 5.6 Equipo de destilación en continuo en CIATEJ. Imagen obtenida de (Padilla <i>et al</i> , 2007).....	52
Figura 5.7 Alambique con aislante térmico, condensador y vaso florentino a nivel piloto para destilación con arrastre con vapor. Imagen obtenida de Huerta (2009). .....	55
Figura 5.8 Diagrama de balance de masa global del proceso. Imagen obtenida de Alfaro (2010). ....	56
Figura 5.9 Densímetro digital portátil de la marca Density2Go .....	58
Figura 5.10 Refractómetro ABBE de la marca Leica modelo Mark II plus. ....	59
Figura 5.11 Tubo de observación de 100 mm para el polarímetro.....	60
Figura 5.12 Polarímetro POLAX-2L de la marca ATAGO.....	60
Figura 5.13 Sistema cromatográfico de gases Agilent Technologies 7890B (CG-EM-FID). ....	61
Figura 6.1. Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre por vapor con columna y sin columna.....	70
Figura 6.2. Rendimiento del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo por arrastre por vapor con columna y sin columna.....	73

Figura 6.3 Rendimiento por fracción del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.....	77
Figura 6.4 Densidad relativa del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.....	80
Figura 6.5 Índice de refracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna. ....	83
Figura 6.6 Rotación óptica del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna. ....	86
Figura 6.7. Contenido de $\alpha$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	90
Figura 6.8 Contenido de $\beta$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	92
Figura 6.9 Contenido de $\alpha$ -terpineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	94
Figura 6.10 Contenido de D-limoneno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	97
Figura 6.11 Contenido de $\gamma$ -terpineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	99
Figura 6.12 Contenido de linalol en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ...	101

Figura 6.13 Concentración de $\alpha$ -terpineol en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor. ....	103
Figura 6.14 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano.....	106
Figura 6.15 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano contra <i>L. innocua</i> en una base de helado. ....	110

## RESUMEN

El aceite esencial de limón tiene propiedades biológicas de interés para la industria de alimentos, farmacéutica y de cosméticos. Éste puede ser extraído por diferentes métodos como por arrastre con vapor. Se han desarrollado tecnologías alternativas a la destilación tradicional por vapor como la destilación en continuo desarrollada en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), misma que permite obtener fracciones de aceite, así como una eficiencia en la recuperación de hasta un 90%, disminuir el tiempo de proceso (4h) y un consumo de vapor 50% menor comparado con el método tradicional. El presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar el efecto de las condiciones de operación de la destilación en continuo y en lote sobre los compuestos de interés que conforman el aceite de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) y, por otro lado, evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial obtenido contra *Listeria innocua*. Finalmente, se estudió su aplicación en una formulación de helado. Las condiciones de proceso para la destilación sin columna fueron flujos de vapor de 30, 20 y 10 mL/min (sc30, sc20, sc10), con columna flujos de vapor de 20, 15 y 10 mL/min (cc20, cc15, cc10), se evaluó el rendimiento y gasto de vapor. La composición química del aceite se evaluó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y detección de ionización de flama (FID), también se midió la densidad, índice de refracción y rotación óptica. La actividad antimicrobiana *in vitro* se realizó por el método de difusión en disco utilizando concentraciones de aceite 0.1, 0.2 y 0.3%, la cepa bacteriana utilizada fue *Listeria innocua*. Para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial en el helado se añadió 0.3% y se inoculó *L. innocua* con un nivel de población de 7.9 log ufc/g durante 20 días (-18°C). Como resultados, se obtuvo un gasto de vapor de 0.63±0.69 a 1.27±0.05 (kg/kg), obteniéndose rendimientos de aceite entre 0.38±0.15 y 0.71±0.19% por tratamiento y por fracción de 0.44±0.26 a 0.01±0.01%; se encontró para el aceite, valores de densidad entre 0.853±0.001 a 0.874±0.003 g/ml a 20°C; índice de refracción 1.475±0.000 a 1.488±0.001; rotación óptica 15.93 ±3.43 a 51.06±2.32 °C; en la composición del aceite esencial de limón los compuestos mayoritarios fueron D-limoneno, α-pineno, β-pineno, α-terpinoleno, α-terpineol, terpinen-4-ol, geranial, β-bisaboleno, β-cariofileno, trans-α-bergamoteno y linalool. Resultó una actividad antimicrobiana moderada para *L. innocua*, observándose formación de halos de inhibición para las tres concentraciones de aceite esencial a 0.1, 0.2 y 0.3%. Para la actividad antimicrobiana del aceite esencial en el helado no se logró la inactivación completa del organismo probado durante el periodo de almacenamiento; por ello la concentración de aceite no fue suficiente para asegurar la inocuidad del producto.

**Palabras claves:** Limón mexicano (*Citrus aurantifolia*), aceites esenciales, destilación en continuo, destilación en lote, formulación de helado, *L. innocua*.

## SUMMARY

Lemon essential oil has biological properties of interest to the food, pharmaceutical and cosmetic industries. It can be extracted by different methods such as steam distillation. Alternative technologies to traditional steam distillation have been developed, such as continuous distillation developed at the Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), which allows obtaining oil fractions, as well as recovery efficiency of up to 90%, reduced process time (4h) and 50% less steam consumption compared to the traditional method. The present work was carried out with the objective of studying the effect of the operating conditions of continuous and batch distillation on the compounds of interest in mexican lemon (*Citrus aurantifolia*) oil and, on the other hand, to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil obtained against *Listeria innocua*. Finally, its application in an ice cream formulation was studied. The process conditions for distillation without column were steam flows of 30, 20 and 10 mL/min (sc30, sc20, sc10), with column steam flows of 20, 15 and 10 mL/min (cc20, cc15, cc10), the yield and steam consumption were evaluated. The chemical composition of the oil was evaluated by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and flame ionization detection (FID), density, refractive index and optical rotation were also measured. The *in vitro* antimicrobial activity was performed by the disk diffusion method using 0.1, 0.2 and 0.3% oil concentrations; the bacterial strain used was *Listeria innocua*. To evaluate the antimicrobial activity of the essential oil in ice cream, 0.3% was added and *L. innocua* was inoculated with a population level of 7.9 log cfu/g for 20 days (-18°C). As results, a vapor expenditure of 0.63±0.69 to 1.27±0.05 (kg/kg) was obtained, obtaining oil yields between 0.38±0.15 and 0.71±0.19% per treatment and per fraction from 0.44±0.26 to 0.01±0.01%; density values between 0.853±0.001 to 0.874±0.003 g/mL at 20°C; refractive index 1.475±0.000 to 1.488±0.001; optical rotation 15.93±3.43 to 51.06±2.32 °C; in the composition of lemon essential oil the major compounds were D-limonene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpinolene,  $\alpha$ -terpineol, terpinen-4-ol, geranial,  $\beta$ -bisabolene,  $\beta$ -caryophyllene, trans- $\alpha$ -bergamotene and linalool. Moderate antimicrobial activity for *L. innocua* resulted, with formation of inhibition halos observed for the three concentrations of essential oil at 0.1, 0.2 and 0.3%. For the antimicrobial activity of the essential oil in the ice cream, complete inactivation of the organism tested was not achieved during the storage period; therefore, the concentration of oil was not sufficient to ensure the safety of the product.

**Keywords:** Mexican lemon (*Citrus aurantifolia*), essential oils, continuous distillation, batch distillation, ice cream formulation, antimicrobial activity, *L. innocua*.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, México ha sido considerado como uno de los mayores productores de cítricos del mundo, detrás de países como China, Brasil y Estados Unidos; de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), México es el segundo exportador de limones y el mayor productor de limones persas y variedades de limón mexicano (SAGARPA, 2017). Los principales productores actualmente son Michoacán, Veracruz, Colima y Oaxaca (SIAP, 2019).

Los frutos cítricos incluido el flavedo, albedo, membrana y semillas, se utilizan como materia prima para la elaboración de productos comercialmente importantes. Estos incluyen aceites esenciales (AE). En particular, la cáscara de cítricos son una fuente importante de AE, compuestos de compuestos volátiles responsables del olor y sabor característicos de algunas plantas (Espinal *et al.*, 2008). Los AE de cítricos (mandarinas, limones, naranjas y limas) son mezclas de terpenos y derivados oxigenados, muchos de los cuales tienen importantes aplicaciones industriales, como en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria (Matsuura *et al.*, 2006).

La genética de una planta determina su patrón químico, pero las condiciones ambientales (clima, tipo de suelo, disponibilidad de nutrientes) pueden causar grandes variaciones en los aceites y en las mismas propiedades químicas. Es importante enfatizar que la composición de los aceites esenciales varía según la parte de la planta y el proceso de extracción (Espinal *et al.*, 2008).

El aceite esencial de limón se utiliza en la industria alimentaria como saborizante, como agente antioxidante y antimicrobiano, ya que algunas de sus moléculas han demostrado tener actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas como *E. coli*, *Listeria monocytogenes* y *S. aureus*, entre otras (Tirado *et al.*, 1995). Aumentando el interés por su investigación, surge la necesidad de obtenerlas y concentrarlas mediante métodos que permitan su recuperación.

Los aceites esenciales se pueden extraer por prensado en frío, hidrodestilación, fluidos supercríticos y por arrastre de vapor, entre otros. La destilación por arrastre de vapor es un proceso en el que la cáscara de los cítricos se expone a una corriente de vapor de agua a temperaturas cercanas a los 100 °C que libera y evapora los aceites esenciales. Una mezcla de vapor de agua y el AE se condensa y se separa en un recipiente llamado “vaso florentino” (Gamarra *et al.*, 2006).

Uno de los procesos más utilizados en la industria es la destilación en lote por arrastre de vapor. Se usa cuando se trabaja con una pequeña cantidad de líquido o cuando se usa el mismo equipo para producir diferentes productos. Una de las ventajas de la destilación discontinua es su versatilidad, para un número dado de platos teóricos permite un destilado de mayor concentración en el compuesto más volátil (Carson, 2003). Sin embargo, debido a que no es un proceso estacionario, es un equipo más difícil de controlar que la destilación continua, suele ser menos económica y se tiene un mayor consumo energético.

Es por eso que se propone una nueva tecnología como la destilación en continuo por arrastre con vapor. El equipo patentado por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), permite la destilación de jugos cítricos para la obtención de aceites esenciales. Tiene como ventaja la reducción del consumo energético, la disminución del tiempo de proceso (4 h), una mayor eficiencia en la recuperación de aceite esencial, menor consumo de vapor comparado con el proceso tradicional, teniendo como resultado un menor impacto ambiental y también permite la obtención de fracciones de aceite facilitando su posterior purificación (Mancilla *et al.*, 2007).

Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de las condiciones de operación de la destilación en continuo y la destilación en lote por arrastre con vapor sobre los compuestos de interés que conforman el aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) para obtener así fracciones con diferentes concentraciones de los mismos, y su caracterización mediante CG-EM, análisis fisicoquímico y microbiológico.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1. Historia**

El proceso de destilación (la técnica básica en la industria de los aceites esenciales) concebida y por primera vez empleada en el oriente, fue diseñada en Egipto y la India. Y como en muchos campos, fue en Occidente donde esta rama logró un crecimiento.

Datos sobre métodos, objetivos y resultados de destilación en tiempos antiguos son muy vagos, sino es que nulos, aparentemente sólo existen algunos datos definidos y sólo eran sobre aceite de turpentino.

A principios de la edad media, el arte de la destilación fue usada principalmente para la preparación de aguas destiladas, donde de estos procesos resultaba una precipitación de aceites esenciales como la cristalización del aceite de rosas en la superficie del agua destilada, obteniendo así el aceite, siendo un producto indeseable y rara vez como un producto útil.

Después existió un extenso tratado a los “aceites odoríferos”, principalmente en países de Oriente, así como en la antigua Grecia y Roma. Los aceites eran colocados en botellas de vidrio donde se dejaban reposar, y mediante el calentamiento solar facilitaba la separación de los “aceites odoríferos”. Algunas veces el material era macerado con vino antes de añadirlo al aceite, se filtraba y se calentaba hasta llevarlo a una consistencia tipo miel.

La primera descripción auténtica de destilación de aceites esenciales fue hecha por el físico catalán, Arnald de Villanova (1235-1311), quien incluyendo productos de destilación diferentes al turpentino, introdujo el arte de la destilación dentro de Europa. Fue entonces cuando se comenzó a separar el aceite esencial de los crudos con ayuda del fuego, lo que marcó la pauta en la preparación de los aceites esenciales y se consideró como un proceso químico. Esto dio origen a una de las principales teorías en la producción de aceites esenciales, gracias al médico suizo

Bombastus Paracelsus von Hohenheim (1493-1541), quien basaba su teoría en que lo sublime no era utilizar los aceites crudos, sino el tratar de aislar los extractos de éstos que eran responsables de los efectos curativos en medida de lo posible.

En el siglo XVI se dieron a conocer algunos escritos sobre otros aceites esenciales como el de romero, de algunas maderas y arbustos entre otros. El progreso en los métodos de obtención y el conocimiento de la naturaleza de los aceites esenciales se escribió en “De Artificiois Extractionibus” escrita por el físico alemán, Valerius Cordes (1515-1544) y publicada en 1561 en Straaburg por el naturista suizo, Conrad Gesner (1516-1565).

De la revolución en la ciencia química, que comenzó a finales del siglo XVIII con los trabajos de A. Lavoisier (1743-1794), resultó una iniciativa para la investigación de la naturaleza de los aceites esenciales. Algo que cabe destacar es que los primeros estudios importantes se hicieron sobre el aceite conocido en la antigüedad, el aceite de turpentino. Varios investigadores de diferentes partes del mundo, tales como, el químico francés M. Berthelot (1827-1907), Fr. A. Kekulé, el químico inglés W. Tilden (1842-1926), el químico alemán O. Wallach (1847-1931) entre otros, contribuyeron con estudios sobre aceites esenciales que marcaron el despegue de éstos.

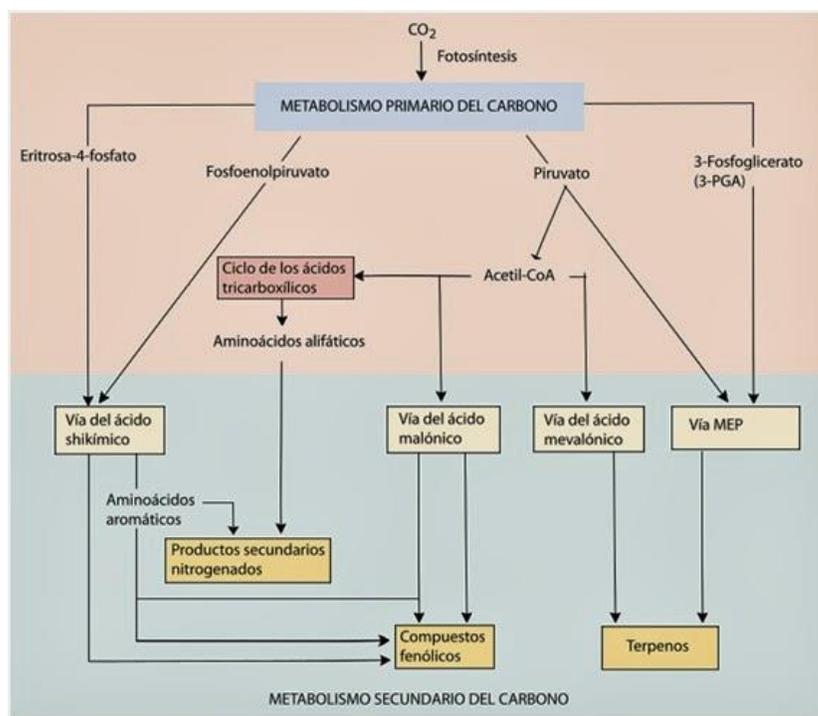
Estas investigaciones dieron como resultado la expansión del uso de estos aceites a mediados del siglo XIX y de manera gradual incursionaron en la fabricación de medicamentos, así como la aplicación en el área de perfumería, bebidas y alimentos (Guenther, 1972).

## **2.2. Los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, originadas del metabolismo secundario de las plantas, por lo tanto, no participan en forma directa en el desarrollo y crecimiento de las plantas, sino que tienen funciones ecológico-evolutivas que varían despendiendo de la planta (Hyldgaard *et al*, 2012).

Los aceites esenciales se sintetizan en mitocondria, cloroplastos, citoplasma y vacuolas, por lo que se ubican en los diferentes tejidos vegetales.

Tres rutas bioquímicas son bien conocidas y tres familias orgánicamente identificables para su síntesis (Figura 2.1), la ruta del ácido siquímico, usando fosfoenolpiruvato y la eritrosa 4-fosfato con el ciclo del ácido tricarbóxico y el ciclo de Krebs. Como resultado de la interacción, se forman aminoácidos aromáticos y aminoácidos alifáticos, en el que finalmente se producen dos tipos de compuestos secundarios: Alcaloides y Fenólicos. La vía del mevalonato, es la vía que resulta de la conjunción de acetil-CoA para producir una serie compuestos secundarios: los terpenos. La vía de los policétidos (acetogeninas) también produce compuestos fenólicos mediante la combinación de ácido acético y acetil-CoA.



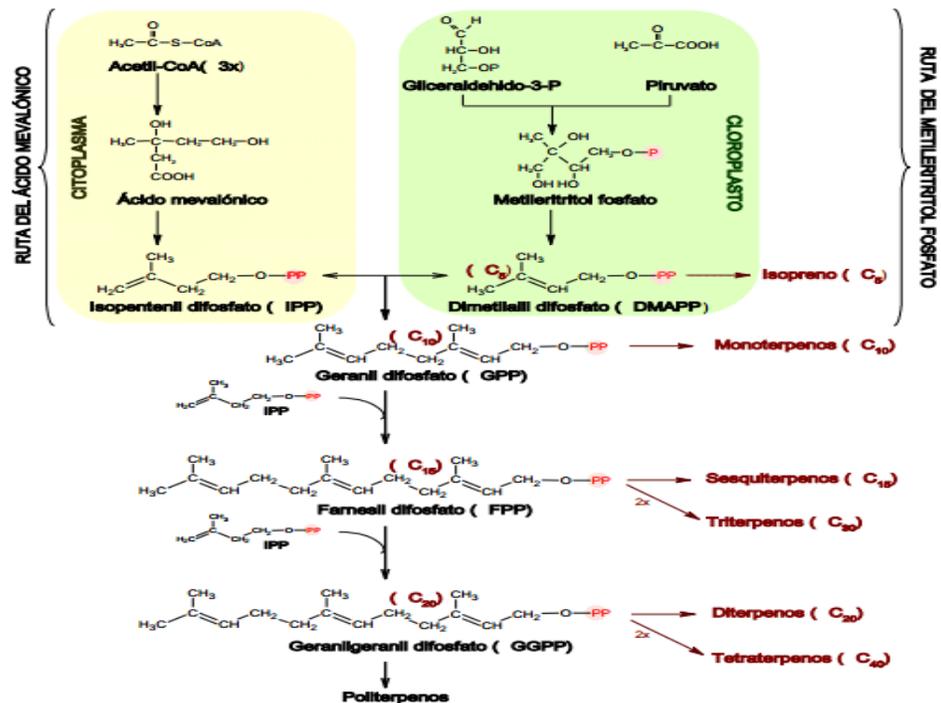
**Figura 2.1** Metabolismo de compuestos secundarios (Troncoso *et al.*, 2012).

Los aceites esenciales suelen ser mezclas complejas de hasta más de 100 y pueden tener las siguientes propiedades químicas, por: alcaloides, compuestos alifáticos de

bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos), fenoles (fenilpropanos) (Matus, 2003).

### **2.2.1. Terpenos**

Los terpenos son lípidos insaponificables compuestos por dos o más unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno). Pueden ser moléculas lineales o cíclicas, algunas de las cuales contienen ambos tipos de estructura. Las plantas los sintetizan a partir de metabolitos primarios a través de dos rutas: la ruta del ácido mevalónico en el citoplasma, donde tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico (MVA), y el ácido mevalónico reacciona para formar isopentenil pirofosfato (IPP); o la ruta del metileritritol fosfato (DMAPP), es un precursor biosintético de terpeno en una reacción de condensación para producir pirofosfato de E-geranilo, un precursor de monoterpenos, farnesil pirofosfato (FPP) un precursor de sesquiterpenos, y geranil pirofosfato (GGPP), un precursor de diterpenos. La hidrólisis de todos los sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) están formados por unión de tres unidades de isopreno, su estructura y función son muy similares a los monoterpenos (Pérez, 2013). Los diterpenos (C<sub>20</sub>) constan de cuatro unidades de isopreno, tienen mayor peso molecular y menor volatilidad que los monoterpenos y sesquiterpenos, sus características moleculares y estructurales dificultan su extracción por flujo de vapor (Figura 2.2) (Hernández, 2011).



**Figura 2.2** Síntesis de terpenos y clasificación según las unidades de isopreno (Avalos-García & Pérez-Urrutia, 2009).

### 2.2.2. Fenoles

Los fenilpropanos o fenoles, son sustancias naturales ampliamente distribuidas en las plantas, caracterizadas por un anillo aromático unido a una cadena de tres carbonos y derivados biosintéticamente del ácido siquímico.

El ácido siquímico se convierte en los aminoácidos fenilalanina o tirosina, que enzimáticamente producen ácido cinámico o p-hidroxicinámico (también llamado ácido p-cumárico). Estos dos ácidos aromáticos son los precursores directos del fenilpropano natural.

Suelen ser destilados por arrastre con vapor, contienen sustancias responsables del aroma de la planta y son importantes en la industria, principalmente en la

cosmética (perfume y aromatizante), alimentaria (condimento y saborizante) y farmacéutica (saborizante) (Guenther, 1972, Matus, 2003).

### **2.2.3. Resinas**

En este grupo de productos naturales podemos encontrar varias combinaciones o mezclas posibles: Resinas, por: productos amorfos sólidos o semisólidos de naturaleza química compleja, pueden ser de origen fisiológico o fisiopatológicos; Oleorresinas: son mezclas homogéneas de resinas y aceites esenciales. También se utiliza el término oleorresina para referirse a extractos vegetales obtenidos mediante disolventes que deben estar prácticamente exentos de dichos disolventes. Debido a sus ventajas (estabilidad, homogeneidad química y microbiológica), son ampliamente utilizados en la producción de sabores alimentarios y farmacéuticos (Matus, 2003).

### **2.2.4. Clasificación de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales se clasifican según diferentes criterios: consistencia, origen y propiedades químicas de los componentes principales.

Según la consistencia, los aceites esenciales se dividen en esencias líquidas, bálsamos y oleorresinas. Las fragancias líquidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son de consistencia más espesa, menos volátiles y sujetos a polimerización. Las oleorresinas tienen un aroma herbal concentrado y suelen ser sustancias muy viscosas o semisólidas.

Dependiendo de la fuente, los aceites esenciales se dividen en naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta sin más modificaciones físicas ni químicas y son muy caros por su bajo rendimiento. Las esencias artificiales se obtienen enriqueciendo de la misma esencia con uno o más componentes. Como sugiere su nombre, los aceites sintéticos son el producto de procesos de síntesis química. Estos últimos son más económicos y por lo tanto más

utilizados como saborizantes y aromatizantes (esencia de vainilla, limón frutilla, etc.) (Cerutti & Neumayer, 2004). Pero las tendencias actuales de consumo apuntan a un concepto más natural. Por ello, en los últimos años el uso de este tipo de esencias sintéticas se ha ido disminuyendo.

Desde un punto de vista químico, a pesar de su compleja composición, los aceites esenciales se pueden clasificar según sus principales componentes. Del mismo modo, los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites monoterpenoides (por ejemplo, hierbabuena, albahaca, salvia, etc.) y los aceites ricos en sesquiterpenos se denominan aceites sesquiterpénicos (por ejemplo, copaiba, pino, junípero, etc.). Los fenilpropanoides son aceites esenciales fenilpropanoides (como el clavo, canela, anís, etc.) (Guenther, 1972).

#### **2.2.5. Distribución y estado natural**

Los aceites esenciales se encuentran en diversas partes de la planta, como en las hojas (ajenjo, albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, pachulí, romero, salvia, etc), raíces (cúrcuma, jengibre, sazafrán, valeriana, etc), en la cáscara (limón, mandarina, naranja, etc.), en semillas (anís, cardamomo, hinojo, comino, etc.), en flores (lavanda, manzanilla, tomillo, etc.). En frutos (nuez moscada, perejil, pimienta, etc.) (Guenther, 1972; Matus, 2003).

#### **2.2.6. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales**

El propósito del control de calidad del aceite esencial es garantizar que tenga ciertas propiedades analíticas y que estas propiedades permanezcan constantes de un lote de producción a otro. Mediante el análisis, es posible evaluar el cumplimiento de los estándares de calidad y detectar falsificaciones, es decir, que el producto es realmente natural.

Las características estudiadas deben describir suficientemente del producto para permitir la detección de desviaciones consideradas suficientes para rechazar el lote (Bandoni, 2000).

### **2.2.7. Parámetros analíticos empleados en el control de calidad de aceites esenciales**

Los parámetros analíticos utilizados para en el control de calidad de los aceites esenciales se dividen en seis categorías desde propiedades sensoriales hasta las propiedades espectrales pasando por la determinación de constantes físicas e indicadores químicos, así como estudios cromatográficos, que incluirán la determinación de componentes principales (Bandoni, 2000).

### **2.2.8. Índices químicos**

El índice de acidez se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar la acidez en un gramo de aceite esencial. El índice de éster se define como los miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saponificar los ésteres presentes en un gramo de aceite esencial. Índice de saponificación, es la suma de los índices anteriores (Bandoni, 2000).

### **2.2.9. Propiedades cromatográficas**

En el control de calidad, las propiedades cromatográficas se utilizan para obtener un cromatograma y cuantificar los principales componentes volátiles de los aceites esenciales, es decir, mayoría o no la mayoría tienen una tendencia hacia la calidad. El mayor valor de los cromatogramas es el rechazo de los aceites esenciales en presencia de constituyentes inusuales o en ausencia de constituyentes típicos (Bandoni, 2000).

### **2.2.10. Propiedades espectrales**

Se utilizan principalmente la espectroscopia UV-Vis e IR. En la espectroscopia infrarroja, el espectro infrarrojo se puede utilizar como parámetro de calidad en relación con los estándares establecidos (Bandoni, 2000).

### **2.2.11. Determinaciones físicas**

Implica principalmente de la determinación de constantes físicas, entre las que se destacan la densidad, el índice de refracción y el poder rotatorio.

#### **2.2.11.1. Densidad**

La densidad se puede medir con un picnómetro o un densímetro electrónico. Debe especificarse la temperatura de funcionamiento (normalmente a 20 °C). Casi todos los aceites esenciales son menos densos que el agua (Bandoni, 2000).

#### **2.2.11.2. Índice de refracción**

El índice de refracción se puede determinar utilizando un refractómetro electrónico, que normalmente mide a 20 °C o corrige las diferencias de temperatura. Este parámetro es de interés para la detección de adulteraciones y su principal ventaja es la rapidez y sencillez de su adquisición (Bandoni, 2000).

#### **2.2.11.3. Poder rotatorio**

Los constituyentes de los aceites esenciales suelen ser ópticamente activos, predominando un isómero. Por lo tanto, la detección del poder rotatorio puede ser muy útil para detectar adulteraciones o falsificaciones (Bandoni, 2000).

### **2.3. Extracción y aislamiento**

Los aceites esenciales representan una pequeña fracción de la composición de una planta, pero confieren las propiedades características por las que se utilizan las plantas aromáticas en la industria farmacéutica, alimentaria y de fragancias. Hoy en día, está claro que los aceites tienen una composición compleja y variable, formada por numerosos constituyentes, especialmente hidrocarburos y compuestos oxigenados. Aunque estos aceites pueden parecer relativamente fáciles de aislar, su composición puede variar mucho según el método de extracción utilizado (Cassel *et al.*, 2009).

Existen varios métodos para su obtención, donde las muestras vegetales son sometidas por diferentes procesos de extracción, como destilación con vapor, extracción con solventes, enfleurage o fluidos supercríticos (Mehmet *et al.*, 2003).

### **2.4. Extracción con solventes**

Las muestras secas y molidas son expuestas a solventes como el alcohol o el cloroformo, estos compuestos disuelven los aceites esenciales pero también extraen otras sustancias como grasas y ceras, produciendo esencias impuras, a nivel industrial utilizando solventes costosos y de alto valor (Rodríguez *et al.*, 2012). El proceso se suele realizar de forma continua o discontinua (percolación, lixiviación, extracción tipo Soxhlet) a temperatura ambiente y presión atmosférica. Los disolventes más utilizados son etanol, acetona, cloroformo, metanol, hexano, ciclohexano, tolueno, xileno, éter dietílico, éter isopropílico y acetato de etilo. El solvente se recupera por destilación y se puede reutilizar (Hernández, 2011). Además de que el proceso requiere tiempos largos, se pueden encontrar trazas de los solventes utilizados en los aceites esenciales, por lo que su uso en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica es limitado (Peredo *et al.*, 2009).

## **2.5. Método de enflorado o enfleurage**

El material vegetal (generalmente flores) entra en contacto con grasa, generalmente manteca de cerdo RBD (refinada, blanqueada, desodorizada). El contacto dura hasta 5 días. Luego se retira el material vegetal y se reemplaza con material fresco, y el proceso se repite hasta que la grasa se satura, obteniéndose una mezcla que se separa posteriormente con otros métodos. Generalmente se agrega alcohol caliente seguido de enfriamiento para separar la grasa, lo que la convierte en una técnica costosa y de bajo rendimiento (Hernández, 2011; Rodríguez *et al.*, 2012).

## **2.6. Fluidos supercríticos**

Se pueden obtener extractos sin solventes y las tasas de extracción son más rápidas que con los solventes orgánicos tradicionales (Peredo *et al.*, 2009). El fluido supercrítico más utilizado es el CO<sub>2</sub>. Debido a que no es tóxico, no contamina, no es inflamable, es económico y fácil de reciclar, no presenta problemas de manejo de desechos ambientales, por lo que es ampliamente conocido como un solvente ecológico. En condiciones supercríticas, tiene baja viscosidad, baja tensión superficial y alto coeficiente de difusión (10 veces mayor que los fluidos normales), lo que resulta en un alto contacto con la superficie del material y penetración en los poros finos, lo que garantiza una buena eficiencia. Su ventaja es que se puede separar completa y fácilmente del extracto, simplemente cambiando la presión o la temperatura (Hernández, 2011).

## **2.7. Destilación**

La destilación se puede definir como “la separación de los componentes de una mezcla de dos o más líquidos debido a la diferencia en su presión vapor”. La diferencia entre el comportamiento de mezclas de una fase y mezclas de dos fases se entiende mejor razonando lo que pasa cuando se vaporiza un líquido. Considere

un líquido en un recipiente cerrado, a cierta temperatura fija, la energía promedio de las moléculas no cambia. Las moléculas están en constante movimiento aleatorio y la temperatura determina la velocidad de cualquier molécula, pudiendo viajar sólo distancias cortas dentro del líquido, antes de ser influenciadas por otra molécula cambiando de dirección. Sin embargo, cualquier molécula en la capa límite puede moverse en dirección contraria al líquido logrando escapar al espacio que se encuentra sobre el líquido, y así convertirse en una molécula de vapor. Las moléculas de vapor también están en constante movimiento y tienen la capacidad de ser condensadas y reincorporarse a la fase líquida cuando chocan con ésta; a mayor temperatura mayor número de moléculas en la fase vapor, y más posibilidad de ser condensadas, hasta lograr un equilibrio en donde las moléculas que escapan es igual las moléculas que se condensan, permaneciendo un número total de moléculas en el vapor constante; si el recipiente se abre, se escapan las moléculas de vapor y el sistema tenderá a lograr nuevamente el equilibrio (Guenther, 1972). El punto de ebullición es la temperatura de las condiciones atmosféricas u otra presión específica y el líquido se convierte en vapor; es decir, la temperatura a la cual la presión vapor del líquido es igual a la presión ambiental. Mostrando que cualquier reducción en la presión repercute en la reducción del punto de ebullición del fluido (Guenther, 1972).

Si el líquido es una mezcla de un líquido puro en equilibrio con su vapor y otro líquido que es completamente inmiscible con el primero, nos lleva al concepto de heterogénea de líquidos, lo cual es para el caso de la destilación de aceites esenciales por arrastre con vapor o por hidrodestilación, donde sí se considera que ambos líquidos se encuentran iguales en las dos fases, incluyendo la capa límite, se dice que la velocidad de condensación disminuye, debido a que sólo se pueden condensar cuando chocan moléculas del mismo líquido y al haber líquidos se reduce dicha posibilidad. Igualmente la velocidad de vaporización disminuye, porque ambas dependen del porcentaje de moléculas de líquido presentes en la superficie. Con lo que se puede concluir que el número de moléculas totales presentes en el

espacio vapor de una mezcla líquida con dos fases a cualquier temperatura, es igual a la suma de moléculas presentes en cualquiera de los dos líquidos repartidos como uno, por lo que la composición de la mezcla del vapor no depende de la composición del líquido; mientras que la presión total es igual a la presión ejercida de cada molécula por el número de moléculas totales, por lo que sí depende de la concentración. Para una mezcla de líquidos según lo anterior, las moléculas totales presentes en fase vapor en equilibrio será mayor que el que presentará un líquido puro a la misma temperatura, ya que la presión vapor dada por la mezcla de vapores es mayor que la presión vapor ejercida por un líquido puro (Guenther, 1972).

En la destilación de aceites esenciales el vapor tiene una presión constante, si la presión de operación es atmosférica a una temperatura de 96 °C comenzará a ebullición, si se introduce un aceite insoluble, la presión en el espacio vapor aumentará, pero en el caso de estar trabajando a presión atmosférica la presión se reducirá, lo que lleva a una reducción en la temperatura, y cuando la temperatura disminuye la tendencia de las moléculas líquidas a escapar a la fase vapor también disminuye, por lo que la concentración de moléculas en la fase vapor también disminuye, por ende la presión vapor. Por lo tanto, la disminución de la temperatura será hasta un valor tal que la presión total ejercida por la mezcla de vapor sea igual a la de operación (presión atmosférica). Así la temperatura de ebullición de una mezcla de dos o más líquidos será siempre menor que la de los líquidos puros a la misma presión total. Y la composición del vapor formado dependerá de la presión vapor parcial de cada componente, debido a que la razón de los pesos entre los componentes estará dada por la razón de su presión vapor multiplicada por la razón de sus pesos moleculares. Así pues, la ebullición en este tipo de mezclas líquidas ocurre cuando la presión parcial ejercida por los componentes es igual a la presión mantenida en el espacio del vapor; por este motivo, líquidos heterogéneos hierven o se destilan a temperatura tal que la presión total es la misma, siempre permaneciendo por debajo del punto de ebullición del constituyente (Guenther, 1972).

Dentro de la práctica de destilación se puede llevar a cabo de tres maneras, hidrodestilación, destilación con agua y vapor o arrastre con vapor (destilación con vapor vivo), que es la técnica más utilizada en la industria por su sencillez, bajo costo y alto rendimiento (Luna, 2007).

### **2.7.1. Hidrodestilación**

La hidrodestilación es el proceso en el que el material vegetal se sumerge en agua en estado de ebullición. El agua penetra en los tejidos de las plantas y disuelve parcialmente el AE presente en varios órganos de las plantas y se recolecta por condensación. Este método requiere largos tiempos de calentamiento y utiliza grandes cantidades de agua, aumentando el costo y el tiempo de la destilación (Hernández, 2011).

### **2.7.2. Destilación con agua y vapor**

Es un método en el que el material vegetal se coloca sobre una malla para evitar el contacto directo con el agua que se encuentra debajo. El agua hierve y el vapor producido pasa a través de la materia vegetal. El paso uniforme del vapor generado a través de la carga es fundamental para la extracción completa del AE (Hernández, 2011; Rodríguez *et al.*, 2012).

### **2.7.3. Destilación por arrastre con vapor**

Consiste en la obtención de AE utilizando vapor saturado a presión atmosférica. A diferencia de la destilación con vapor de agua, el generador de vapor no forma parte del recipiente en donde se almacena la materia prima sino que es externo y proporciona un flujo continuo de vapor. Cuando el vapor entra en contacto con la materia prima, se calienta y libera el AE que contiene. Se disuelve en el vapor circundante y es “arrastrado” corriente arriba hacia el condensador. Una mezcla de

vapor saturado y AE fluye a través de un condensador, donde la mezcla se enfría a temperatura ambiente, produciendo una emulsión líquida inestable que se separa en un vaso florentino (Hernández, 2011).

La destilación por arrastre con vapor se utiliza industrialmente debido a sus altos rendimientos, la alta pureza del aceite resultante y el hecho de que no requiere técnicas complicadas. Además, puede usarse en la industria alimentaria para eliminar contaminantes y sabores de gases y aceites comestibles. La presión total es tan baja que la presión de vapor del sistema es igual a la presión total a temperaturas relativamente bajas (Geankoplis, 1998).

#### **2.7.3.1. Componentes del equipo de destilación por arrastre de vapor**

El equipo de destilación debe permitir la operación más conveniente independientemente del material vegetal del que se destila la esencia. En cambio, el tamaño de la planta siempre debe coincidir con la cantidad de plantas producidas y el tiempo disponible para la destilación.

El destilador consta de una retorta o alambique de acero inoxidable (1), un condensador (2), un colector de condensado (3) y un generador de vapor (4) (Figura 2.3). En el alambique, es donde se deposita el material a destilar, consiste en un recipiente cilíndrico, cuyo diámetro es igual a la altura o ligerísimamente menor que ella, con una tapa en la parte superior de la cual sale de la parte central un tubo llamado “cuello de cisne” que es el conductor del vapor hacia el condensador; los condensadores más utilizados son los tubos compuestos por un serpentín, aunque también existen condensadores tubulares que son más eficientes, en los que el agua fría entra por el fondo y sube en sentido contrario al vapor de agua y aceite que circula por los tubos.



**Figura 2.3** Equipo de destilación.

En el fondo del alambique se coloca la criba o parrilla para soportar el material a destilar. Hay un tubo de entrada de vapor debajo de la parrilla. La distribución del vapor es proporcionada por la disposición en espiral o en cruz de la extensión de la tubería de envío, que también tiene una serie de pequeños orificios en la parte superior y a lo largo de la línea para una distribución uniforme. En el fondo del alambique hay una válvula de descarga de capacidad suficiente para permitir que cualquier cantidad de agua que se condense en la carga gotee al fondo para su eliminación durante la destilación (Guenther, 1972).

#### **2.7.4. Destilación fraccionada**

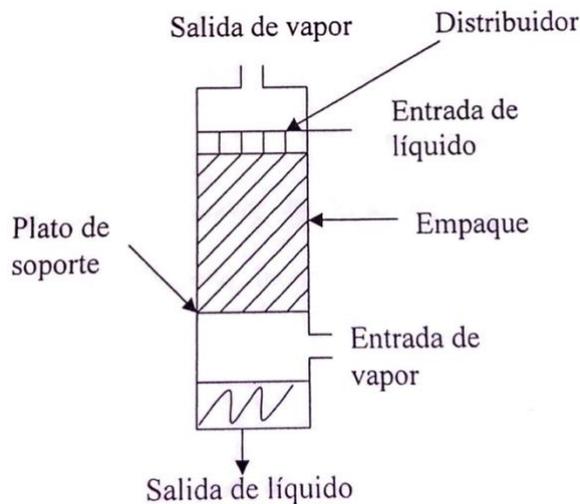
La destilación fraccionada es una operación esencial en la industria química y afines. Se utiliza cuando es necesario separar la materia prima en sus componentes principales, ya que en cada etapa o fracción de la planta de destilación, a medida que la fase de vapor se vuelve más rica en componentes ligeros, la fase líquida se vuelve rica en componentes pesados.

El núcleo del sistema de destilación fraccionada es la columna de fraccionamiento, cuyo diseño (tamaño, número de platos, tipo de empaque,

diámetro, etc.) depende en gran medida del éxito de la separación. En una columna de destilación el líquido y el vapor están siempre en su punto de burbujeo y punto de rocío respectivamente, por lo que la temperatura más alta del sistema se encuentra en la parte inferior y las más bajas en la parte superior (Geankoplis, 1998).

Por lo general, la columna se empaqueta de materiales aleatorios. En algunos casos, sin embargo, pueden colocarse cuidadosamente en su posición. El empaque tardío está en la fase de reflujo (Perry, 2001).

Las columnas empacadas consisten en un cuerpo cilíndrico que contiene un plato de soporte para el material de empaque, un dispositivo de distribución de líquido diseñado para proporcionar la irrigación eficaz del empaque (Figura 2.4).



**Figura 2.4** Columna empacada.

Las condiciones que favorecen a las columnas empacadas son: pueden manejar ácidos y muchos otros materiales corrosivos porque la estructura puede ser de cerámica, carbono u otros materiales resistentes a la corrosión. Los empaques generalmente tienen características prácticas de eficiencia y caída de presión para destilaciones con vacío; los líquidos que forman espuma fácilmente son más fáciles

de manejar en columnas empacadas porque la mezcla de líquido y gas es relativamente baja; la retención de líquidos en columna empacada puede ser baja, esta es una de las ventajas si el líquido es sensible al calor (Perry, 2001).

El fraccionamiento de los aceites esenciales se lleva a cabo a presiones reducidas. La presión puede reducirse tanto que la temperatura no juegue un papel importante en la calidad del aceite. Para lograr un buen fraccionamiento la presión no debe ser mayor a 5-10 mmHg medido por encima del líquido ebullente, ocasionando una disminución en los puntos de ebullición de los componentes de aceite y así evitando una degradación de éste por las temperaturas a las que ebulen a presión atmosférica (Guenther, 1972).

Para lograr un eficiente fraccionamiento, lo ideal es llevar a cabo la destilación de una manera lenta, generar un eficiente vacío de la retorta, ajustar perfectamente las uniones del equipo (evitando fuga), y tener un condensador muy efectivo para evitar que componentes de puntos de ebullición bajos se fuguen por la bomba de vacío.

Las temperaturas mayores a las cuales comúnmente se trabaja en el fraccionamiento están dentro del rango de 150-200 °C, tales temperaturas pueden obtenerse mediante un baño de aceite que rodee la parte inferior de la retorta o con una chaqueta de vapor sobrecalentado que envuelva la retorta. Aunque el baño de aceite ofrece una ventaja sobre la chaqueta, ya que la transferencia de calor entre dos líquidos es más gradual que la que presentan el aceite volátil y el vapor sobrecalentado. Bajo estas condiciones los hidrocarburos que poseen puntos de ebullición mayores a 300 °C (a presión atmosférica) pueden ser destilados.

Se debe considerar que la presión entre el colector de aceite (receptor de cabeza) y la retorta (colas) siempre existirán algunos milímetros de presión de diferencia, por ejemplo, si la presión en el receptor es de 2 mmHg en la retorta será de 5 mmHg, la velocidad de destilación dependerá entonces de la eficiencia de la bomba de vacío.

En general, cabe señalar que son necesarias varias etapas de fraccionamiento, para obtener productos de alta pureza, por lo que las operaciones de destilación son muy importantes (Guenther, 1972).

#### **2.7.5. Destilación por lote**

La destilación discontinua, también conocida como destilación Batch, consiste en un sistema de rehervidor donde se carga la mezcla a separar. A medida que el vapor fluye a través de los serpentines, la mezcla se calienta hasta el punto de ebullición, luego el vapor sube y entra en un condensador, que lo devuelve a un estado líquido, donde normalmente se acumula en un tanque de almacenamiento de productos. Debido a la diferencia en la volatilidad de los componentes, los productos líquidos son más ricos en componentes volátiles.

En el caso de la separación por lote, no existe un estado estable y la composición de la alimentación inicial cambia con el tiempo. Conforme avanza la destilación, la temperatura del recipiente aumenta y la cantidad de componentes no volátiles disminuye (Carta, 2009).

Aunque la destilación por lote es la alternativa más utilizada, el rendimiento es relativamente bajo y se busca una alta pureza en los productos de interés, su implementación experimental, incluso a escala de laboratorio, es relativamente costosa, y la ejecución de algunos experimentos genera el consumo de altas cantidades de reactivos, tiempo y energía, con un impacto ambiental asociado (Agudelo, 2016).

#### **2.7.6. Destilación en continuo por arrastre con vapor**

La destilación en continuo es una nueva tecnología para la obtención de aceites esenciales con patente otorgada (Título número 330996), el cual permite la destilación de jugos cítricos con una reducción en el consumo energético, una eficiencia de recuperación de aceite de hasta un 90%, un menor consumo de vapor

del orden del 40% comparado con el proceso tradicional en lote, así como la obtención de fracciones de aceite esencial facilitando su posterior purificación.

El prototipo piloto de destilación en continuo consta de cinco cámaras, construido en acero inoxidable con un volumen operacional de 60 L, trabaja de manera continua permitiendo así obtener el aceite esencial.

El proceso se lleva a cabo de la siguiente manera: un flujo de jugo es alimentado, pasando sucesivamente por cada una de las cámaras en las que está dividido el equipo. En cada una de ellas una corriente de vapor es alimentada mediante un difusor que se encuentra en la parte inferior, éste asciende en forma de burbujas en las cuales se difunde el aceite esencial destilado que se encuentra concentrado en el jugo del cítrico, el vapor obtenido se condensa en cada uno de los condensadores de las diferentes cámaras, donde el aceite destilado es separado por decantación.

El equipo posee un intercambiador de calor el cual permite el precalentamiento del alimento con la ayuda del efluente que se obtiene a la salida del proceso lo que genera que el alimento primero ingrese a la primera cámara a una temperatura de 50 °C y a la salida tenga una temperatura de 55 °C y no de 95 °C como en el proceso por lote y de esta manera tener un ahorro energético.

Actualmente se continúa trabajando en la optimización de las condiciones de proceso que permita alcanzar la calidad del aceite similar al que actualmente se comercializa en el mercado (Padilla *et al*, 211).

## **2.8. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales**

Los agentes antimicrobianos sintetizados químicamente, se han empleado desde hace mucho tiempo como conservadores en la industria alimentaria para alargar la vida útil de los productos. Deben implementarse medidas de control eficaces que utilicen conservantes antimicrobianos seguros y naturales para garantizar la inocuidad de los alimentos. Una alternativa de estos antimicrobianos naturales pueden ser los AE obtenidos de plantas y especias, ya que aparte de conferir sabor

y aroma, pueden ser efectivos contra patógenos que afectan a plantas y humanos (Rosas-Gallo & López-Malo, 2011; Gálvez *et al*, 2014). Actualmente, los antimicrobianos naturales se utilizan en la industria alimenticia, farmacéutica, cosmética y de perfumería (Rodríguez, *et. al.*, 2012).

Los aceites esenciales son sustancias extraídas de diversas partes de las plantas aromáticas (flores, semillas, hojas, raíces, cáscara, fruta, etc.), tienen propiedades antivirales, antibacterianas, antimicóticas e insecticidas. Los AE contienen diferentes componentes, de los cuales, los principales representan el 85 a 95% del volumen total y el resto son componentes minoritarios. Un pequeño número de componentes juegan un papel importante en la actividad biológica de los AE, pudiendo, en algunos casos, tener un efecto sinérgico con otros de los compuestos; mientras que, en otros casos, todos los componentes pueden ser los responsables de tener actividad antimicrobiana (Burt, 2004).

Hay muchas fuentes de AE, pero no todos se comportan de la misma manera, ya que presentan variaciones en cuanto a sus propiedades físicas y en la composición de componentes volátiles, las cuales determinan su actividad antimicrobiana. Entre los microorganismos más estudiados, en relación con la actividad antimicrobiana de los AE se encuentran *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Rhizoctonia solani* y *Aspergillus niger*. Se han realizado algunos estudios donde se ha evaluado la efectividad de los AE como antimicrobiano en diferentes grupos de alimentos entre ellos productos lácteos, donde observaron el efecto del AE de vainilla y la combinación de los AE de clavo y canela en leche descremada y entera contra *L. monocytogenes*. Los resultados mostraron que el AE de vainilla inhibió el crecimiento de *L. monocytogenes* de manera similar que la mezcla del AE de canela y clavo. (Cava-Roda *et al.*, 2010). También se observó que, en la leche descremada, la combinación de los AE de salvia y limón fue efectiva contra las cepas de *S. cerevisiae* y *G. candidum* (Tserennadmid *et al.*, 2011).

Un aspecto importante a considerar es que la mayoría de los AE son más activos frente a microorganismos Gram positivos que frente a microorganismos Gram

negativos. Los aceites esenciales y sus componentes tienen la importante propiedad de hidrofobicidad. La membrana celular externa de las bacterias Gram negativas tiene una membrana celular más compleja, posee propiedades hidrofílicas que obstruyen el contacto de los constituyentes hidrofóbicos de los aceites esenciales con la célula bacteriana. En contraste con esto, los aceites esenciales dañan directamente la membrana celular de las bacterias Gram positivas, lo que resulta la ruptura de la membrana celular por el bloqueo del sistema de enzimas y la progresión de la permeabilidad iónica (Dongmo *et al.*, 2010). La efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales está relacionada con su composición química, la cual se ve influenciada por métodos específicos de cultivo, extracción y aislamiento.

## **2.9. El limón como materia prima para la extracción de aceite esencial**

### **2.9.1. Generalidades**

Aunque todavía hay dudas sobre el origen del limón, la teoría más aceptada es que el árbol procedía de la India, desde donde se extendió primero al Medio Oriente y luego a Europa. En el siglo XVIII, los limones comenzaron a usarse en las cocinas como ingrediente en muchos productos alimenticios. En la India, el limón era llamado *nimbuka* en la India, por lo que los persas lo trajeron a Irán y lo llamaron *limu*. Cuando los árabes conquistaron Persia, el limón se llamaba *leimun*. En España fue conocido por los árabes hispanos como *laimún*, de donde se convierte en limón (SIAP, 2017).

### **2.9.2. Producción de limón**

En 2021 los principales estados productores fueron, Veracruz (37.3%), Michoacán (24.1%) y Oaxaca (12.9%), que en conjunto concentraron el 74.3% del total nacional (SIAP, 2021).

México exportó 797 mil toneladas e importó 3 mil en 2020. Las ventas en enero, febrero y marzo de 2021 fueron de 152 mil toneladas, 14 mil toneladas menos que en el mismo período de 2020 (SIAP, 2021).

Existen dos variedades principales que se producen en México: limón persa o sin semilla y el limón mexicano o con semilla. En el primer caso, se cultiva principalmente en las unidades costeras del Golfo (Veracruz, Tabasco y Yucatán), lo que representa el 30% de la producción total; en el segundo, las principales zonas de producción en la costa del Pacífico (Colima, Michoacán, Jalisco, Guerrero y Oaxaca), concentran el 70% de la producción del país (SAGARPA, 2017).

En cualquier caso, la importancia de estas dos variedades de limón se debe principalmente a su complementariedad en el mercado. El limón persa representa alrededor de un tercio del total del país y su principal destino es la exportación, lo que genera divisas para el país. Mientras que el limón mexicano, es el principal proveedor del consumo interno (SAGARPA, 2017).

### **2.9.3. Aspectos generales del limón**

Los limones constan de tres partes: flavedo o exocarpio, albedo o mesocarpio y endocarpio.

#### **2.9.3.1. Flavedo**

El flavedo es una capa delgada cuyo pigmento cambia a un color amarillo verdoso durante la maduración y es intensamente fragante debido a los compuestos terpénicos que componen los aceites esenciales que allí se encuentran (Ortiz, 2018).

### 2.9.3.2. Albedo

El albedo es la parte blanca que contiene pectina, que hace que la corteza sea firme. A medida que el fruto madura, el albedo tiende a degradarse debido a la acción enzimática, por lo que los cítricos se cosechan sin madurar (verdes) para garantizar el máximo rendimiento y la calidad de la pectina (Ortiz, 2018).

### 2.9.3.3. Endocarpio

El endocarpio se forma a partir de la pulpa que contiene las vesículas con el jugo. El endocarpio está dividido por el séptum formando de 10 a 14 gajos que contienen las semillas ubicadas alrededor del eje central (Tabla 2.1) (Ortiz, 2018).

**Tabla 2.1** Clasificación botánica del limón.

Reino:	Vegetal
Clase:	Angiosperma
Orden:	Rutae
Familia:	Rutaceae
Género:	<i>Citrus</i>
Subgénero:	Eucitrus
Especie:	<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle

Fuente: (Ortiz, 2018).

### 2.9.4. Jugo de limón

Según Apesteguía (2009), el jugo de limón contiene 5 a 10% de ácido cítrico, pectina, flavonoides como la *hesperidina* (*glucósido*), minerales como el potasio y calcio, vitaminas (A, B y C) (Tabla 2.2). La corteza es rica en esencia de limón; se obtienen aproximadamente unos 3 g de esencia por cada kilogramo de limón. La cáscara contiene aceites esenciales (2.5%), d-limoneno, alfa-bergamoteno, alfa-pineno, alfa-terpineno, alfa-tujeno, beta-bisaboleno, beta-bergamoteno, beta-

felandreno, beta-citral, citronelol, sesquiterpenos, canfeno, felandreno, citronelal, terpineol, sabineno, acetato de linalilo, acetato de geranilo y citropteno.

**Tabla 2.2** Composición del jugo de limón (por cada 100g).

Ítem	Valor
Agua	91 g
Proteínas	0.38 g
Calorías	24 kcal
Fibra	0.5 g
Potasio	124 mg
Calcio	7 mg
Fósforo	6 mg
Magnesio	6 mg
Vitamina C	46 mg

Fuente: Apesteguía, (2009)

## 2.9.5. Variedades de limón en México

### 2.9.5.1. Limón persa

El limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka), limón sin semillas o lima Tahití, es un fruto tropical que ha cobrado una enorme importancia económica en México en los últimos años. Se considera uno de los alimentos con mayor dosis de vitamina C. Se desconoce el centro exacto de origen; se cree que puede provenir de semillas de cítricos importadas de Tahití, de donde deriva su nombre (Tabla 2.3) (Venegas, 2002).

**Tabla 2.3** Clasificación y descripción botánica del limón persa.

Clasificación botánica	
Clase	Dicotiledóneas
Sub-clase	Arquiclamídeas
Orden	Geraniales
Familia	Rutaceas
Género	<i>Citrus</i>
Especie	<i>latifolia</i>
Nombre Científico	<i>Citrus latifolia</i> Tan.
Sinónimos	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. Swingle) <i>latifolia</i> Yu., Tanaka, <i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. Et. Panz), Swingle var. <i>Tahití</i> .

Fuente: Venegas, (2002).

El limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka), es una planta de tamaño mediano a grande que crece vigorosamente con forma alargada y pocas espinas. El follaje es denso y de color verde, con hojas de tamaño medio, lanceoladas y con pecíolos alados. Las hojas nuevas y brotes suelen ser de color violeta. Florece casi todo el año, principalmente en mayo y junio.

Los frutos presentan tamaño mediano; son ovalados, oblongos o levemente elípticos, con pocas o ninguna semilla. La cáscara suele ser fina, lisa y de color amarillo pálido cuando madura, aunque los frutos destinados a la exportación deben ser de tamaño mediano de color verde oscuro y la piel ligeramente rugosa.

La pulpa es de color amarillo verdoso, jugoso y ácido. El jugo constituye aproximadamente el 50% del peso del fruto, tiene un Brix promedio de 9%, acidez de 6%, la relación SST (sólidos solubles totales/acidez) de 1.5 y un contenido de ácido ascórbico que varía de 20 a 40 mg/100mL (Venegas, 2002).

Según datos del SIAP, la superficie sembrada de limones persas en 2019 fue de 99, 512 hectáreas, un aumento acumulado del 54% en el mismo periodo. El estado con mayor superficie sembrada fue Veracruz con 47,830 hectáreas en 2019 (AGROPRODUCTORES, 2020).

### 2.9.5.2. Limón mexicano

Como la mayoría de los cítricos, el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) es nativo de las regiones tropicales y subtropicales de Asia (Tabla 2.4).

En México se le conoce con varios nombres: limón ácido, limón criollo, limón indio, limón agrio o limón con semilla (Sánchez, 2006).

**Tabla 2.4** Clasificación y descripción botánica del limón mexicano.

Reino:	Plantae
Reino:	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden:	Sapindales
Familia:	Rutaceae
Tribu:	Citreae
Género:	<i>Citrus</i>
Especie:	<i>aurantifolia</i>

Fuente: Sánchez, (2006)

### 2.9.5.3. Principales regiones de cultivo de limón mexicano

El limón mexicano se cultiva en los estados de Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca en la costa del Pacífico (SIAP, 2021). En el año 2018, se informó que la producción de limón agrio mexicano fue de 1,151.331 toneladas. El 61% de la

producción se concentró en Michoacán, el 22% en Colima y el 7% respectivamente en Guerrero y Oaxaca.

#### **2.9.5.4. El limón mexicano como insumo industrial**

Los cítricos se utilizan comúnmente como materia para la producción de subproductos industriales en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica y otras. A partir de la pulpa de limón se puede obtener jugo pasteurizado, jugo clarificado, congelado, concentrado congelado y jugo deshidratado; vinagre, alcohol y ácido cítrico se obtiene a partir de subproductos de jugo para uso en la industria farmacéutica.

De la cáscara, se extrae aceites esenciales, que contienen terpenos, sesquiterpenos, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas, ésteres y ceras. Es importante señalar que el color y el olor dependen de los diferentes cítricos. El mercado identifica diferentes tipos de aceite de limón mexicano con base en el proceso de extracción.

El aceite esencial destilado es el principal subproducto obtenido del limón mexicano, el cual es demandado como saborizante y fragancia en la industria de bebidas de cola. La exportación de México en 2018 fue de 8 mil 439 toneladas (Ortiz, 2009).

#### **2.9.6. Aceite esencial de limón**

Los aceites esenciales (AE) son compuestos aromáticos que se encuentran en grandes cantidades en los sacos presentes en la cáscara de la fruta, principalmente en la parte del flavedo y en las cutículas, como barrera tóxica natural contra diversos microorganismos e insectos. La cáscara de limón contiene un 0.4% de aceite y se considera un producto GRAS (generalmente reconocido como seguro). Son solubles en alcohol, éter y aceites naturales e insolubles en agua. Además, son

extremadamente volátiles e inestables al oxígeno, el calor o la luz (Muriel-Galet *et al*, 2015).

El aceite de limón está compuesto principalmente de 18 alcoholes, 16 aldehídos, 11 ésteres, 3 cetonas, 4 ácidos y 23 monoterpenos y sesquiterpenos (Tabla 2.5) (Flamini *et al*, 2007).

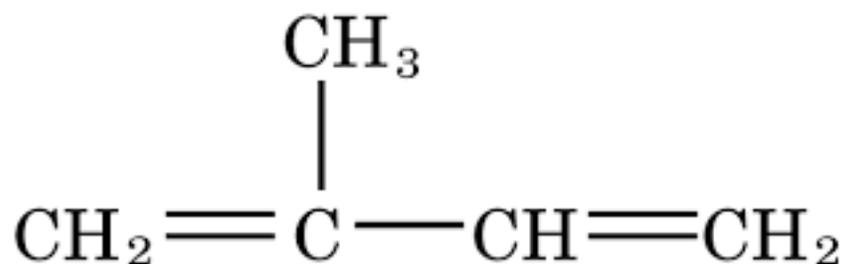
**Tabla 2.5** Principales compuestos identificados en el aceite esencial de limón.

Tipo de Componente	Compuesto volátil
Monoterpenos	Limoneno, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno, $\beta$ -felandreno, p-cimeno
Sesquiterpenos	(E,E)- $\alpha$ -farneseno, (E)- $\beta$ -farneseno, $\beta$ -elemeno, $\delta$ -elemeno, germacreno D, biciclogermacreno, $\alpha$ -humuleno, (E)- $\beta$ -cariofileno, $\delta$ -cadineno
Aldehídos	Citral, citronelal
Alcoholes	Linalol, geraniol, nerol, citronelol, $\alpha$ -terpineol
Esteres	Acetato de linalilo, acetato de geranilo
Cetona	Metil heptanona.
Ácidos	Acético, láurico, cáprico.

Fuente: (Cerutti & Neumayer, 2004)

### 2.9.7. Terpenos

También conocidos como terpenoides, forman un grupo de metabolitos secundarios formados a partir de 5 átomos de carbono o unidades de isopreno (Figura 2.5), de ahí que también se les denomine isoprenoides (Pérez, 2013).

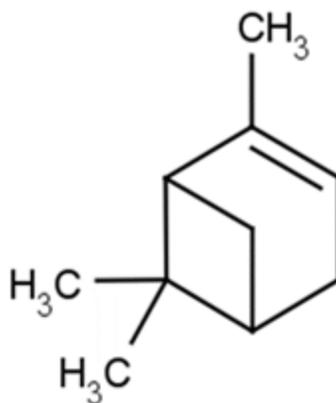


**Figura 2.5** Estructura química de los terpenos.

### 2.9.7.1. $\alpha$ -Pino

Es un compuesto orgánico terpenoide, uno de los dos isómeros del pino. Es un alqueno y contiene un anillo reactivo de cuatro miembros.

Es el miembro más importante de la familia o serie del pino. Está presente en todas las esenciales de trementina en sus formas (+) y (-) y forma parte de los aceites esenciales de muchas especies vegetales, por lo tanto, es probablemente el terpeno más abundante distribuido en la naturaleza y tiene importancia industrial, por su disponibilidad y bajo costo, es la base de la mayoría de las síntesis de la familia de los terpenoides (Figura 2.6) (Modzelewska *et al*, 2005).



**Figura 2.6** Estructura química del  $\alpha$ -Pino.

Desde la antigüedad se conocen sus propiedades anticancerígenas, en la actualidad se siguen realizando estudios (Chen *et al.*, 2015), con células hepáticas, además de su acción antiinflamatoria (Bae *et al.*, 2012), broncodilatadora y antimicrobiana (Yang *et al.*, 2011).

### 2.9.7.2. $\beta$ -Pineno

Es un compuesto orgánico que se encuentra en las plantas. Es uno de los dos isómeros de pineno (el otro es  $\alpha$ -pineno). Es un líquido incoloro que es soluble en alcohol, pero insoluble en agua. Huele a madera y pino verde (Figura 2.7) (Wishart *et al.*, 2007)

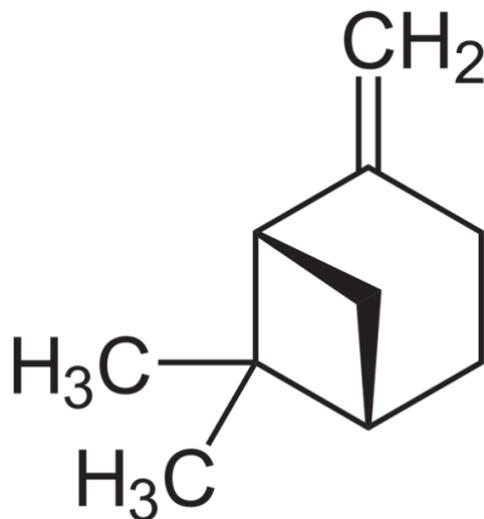


Figura 2.7 Estructura química del  $\beta$ -Pineno.

### 2.9.7.3. $\beta$ -Felandreno

Es un compuesto orgánico que se encuentra en varios aceites esenciales, se utiliza como agente saborizante y en la industria cosmética en los perfumes, tiene un isómero llamado  $\alpha$ -felandreno, ambos son monoterpenos cíclicos (Figura 2.8). De esta molécula se conoce que posee actividad antibacteriana (Svoboda *et al.*, 2003).

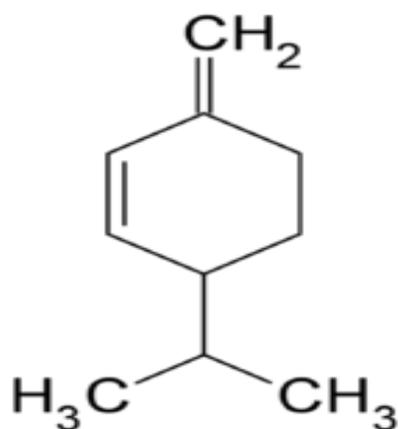


Figura 2.8 Estructura química del  $\beta$ -Felandreno.

#### 2.9.7.4. p-Cimeno

Es un compuesto orgánico aromático de origen natural. Se clasifica como un alquilbenceno relacionado con los monoterpenos. Su estructura consiste en un anillo de benceno sustituido para con un grupo metilo y un grupo isopropílico. Se encuentra en muchos aceites volátiles como el limón (Figura 2.9) (Serio, 1952).

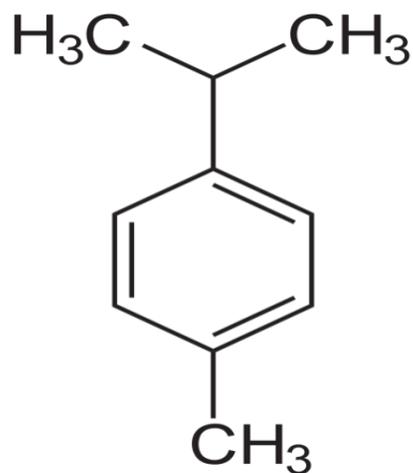
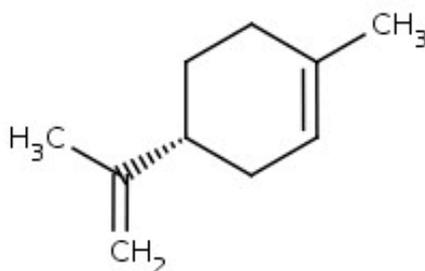


Figura 2.9 Estructura química del p-Cimeno.

### 2.9.7.5. Limoneno

Es un compuesto terpénico monocíclico (Figura 2.10) que da olor característico a limón y es el principal constituyente en la mayoría de los AE de cítricos (naranja, limón, mandarina, lima y toronja), se reconoce como un compuesto seguro para el hombre e inclusive no se reporta toxicidad a su exposición por periodos prolongados (Hober, 2011).

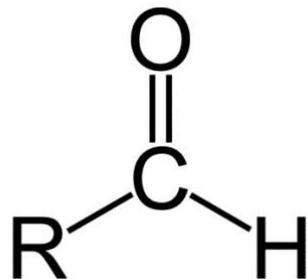


**Figura 2.10** Estructura química del Limoneno.

Además de su uso en la industria como saborizante, existen estudios sobre las propiedades antibacterianas, anticancerígenas sobre algunas líneas celulares, además de que se ha empleado para tratar el reflujo gastroesofágico (Sun, 2007).

### 2.9.7.6. Aldehídos

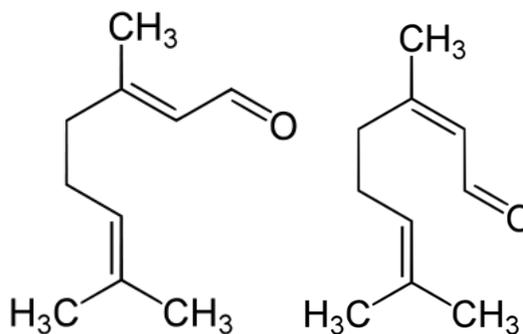
Son compuestos en los que los grupos carbonilo están unidos a carbono e hidrógeno (Graham, 1988). Su fórmula general es RCHO; es un compuesto que se oxida fácilmente y reacciona a la adición nucleófila (Figura 2.11) (Bolívar, 2022).



**Figura 2.11** Estructura química de los Aldehídos.

### 2.9.7.7. Citral

Es una mezcla de un par de terpenos, los dos compuestos en cuestión son isómeros con doble enlace con la fórmula empírica  $C_{10}H_{16}O$ , el isómero trans (E) es conocido como geranial o citral A, mientras que el isómero cis (Z) es conocido como neral o citral B (Figura 2.12).

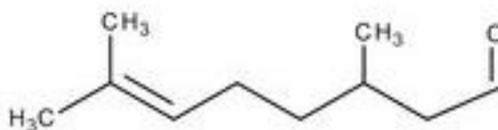


**Figura 2.12** Estructura química del Geranial y Neral.

Es usado en la industria alimentaria y cosmética además de pesticida y posee actividad anticancerígena (Dudai *et al.*, 2005).

### 2.9.7.8. Citronelal

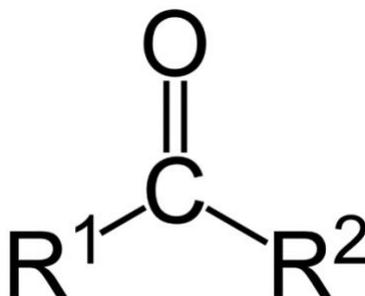
Es un monoterpenoide de la familia de los aldehídos (Figura 2.13), además de su uso como saborizante en los alimentos también posee actividades antifúngicas (Bolívar, 2022).



**Figura 2.13** Estructura química del Citronelal.

### 2.9.7.9. Cetonas

Este compuesto orgánico se caracteriza por un grupo carbonilo unido a dos átomos de carbono (Figura 2.14). Las cetonas tienden a ser menos reactivas que los aldehídos porque el grupo alquilo actúa como un donante de electrones intuitivo. Se forman cuando los dos enlaces libres que quedan en el enlace carbonilo-carbono se convierten en una cadena hidrocarbonada (Pino, 1999).



**Figura 2.14** Estructura química de las Cetonas.

### 2.9.7.10. Alcoholes

Estos son compuestos con un grupo oxhidrilo unido a un carbono saturado. El carbono saturado puede ser un carbono o grupos alquilo simples (Figura 2.15) (Graham, 1988).

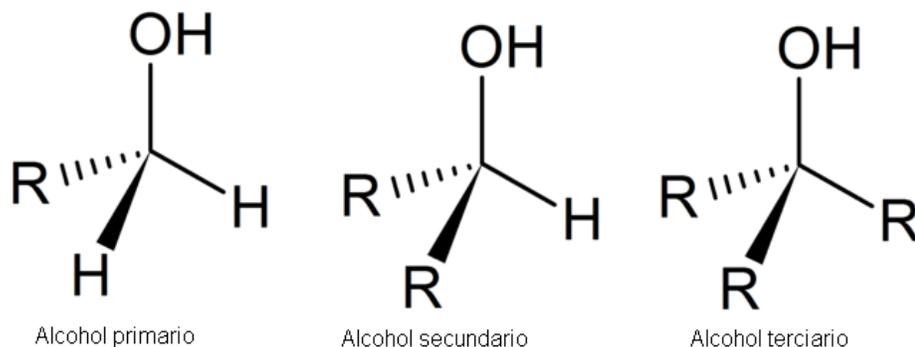


Figura 2.15 Estructura química de los Alcoholes.

### 2.9.8. Usos de los aceites esenciales de cítricos

Los aceites esenciales son líquidos oleosos aromáticos con olores fuertes que se producen como metabolitos secundarios a partir de diversos materiales vegetales (flores, semillas, hojas, corteza, frutos y raíces) (Bakkali *et al.*, 2008).

Las especies de cítricos de mayor importancia comercial son las naranjas dulces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y mandarinas (*Citrus unshiu*) más del 80%, seguido de los limones (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) y limas (*Citrus aurantifolia* Christm. Swing).

En la naturaleza, los aceites esenciales juegan un papel importante en la protección de las plantas contra bacterias, virus, hongos e insecticidas. También pueden atraer a algunos insectos para facilitar la dispersión de pólenes o repeler a otros insectos no deseables. Gracias a sus propiedades antibacterianas y antifúngicas, se utilizan como alternativa a los productos químicos sintéticos para proteger el equilibrio ecológico sin presentar efectos secundarios (Carson, 2003).

El aceite esencial de limón se usa ampliamente en la industria como el principal ingrediente aromatizante de bebidas carbonatadas no alcohólicas, principalmente

para lograr el conocido sabor a cola. También se utiliza en la industria de pastelería, confitería y panadería, en la elaboración de aromatizantes, saborizantes y para algunas aplicaciones en la industria de los cosmética y perfumería.

#### **2.9.9. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de limón**

Los aceites esenciales obtenidos de la cáscara de limón se utilizan a menudo en la industria alimentaria. Agregar estos aceites esenciales es un sustituto natural. Además de aportar sabor, también tiene actividades biológicas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas y otras que potencian la funcionalidad del alimento. Además de su acción antiséptica, los aceites esenciales pueden controlar el crecimiento de hongos y levaduras que pueden deteriorar los productos (Ponso *et al*, 2020).

Su actividad antibacteriana se basa principalmente en su composición química, especialmente en la naturaleza de los compuestos volátiles más importantes. Necesitan determinar las bacterias, el seguimiento y la síntesis de toxinas. En el caso de las levaduras, actúan sobre la formación de biomasa y *pseudomicelio* al inhibir la germinación de esporas, la elongación del micelio, la esporulación y la producción de toxinas (Burbano, 1998), destacando los componentes que lo componen, especialmente el quimiotipo limoneno. Se ha demostrado que el limoneno, tiene actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. entérica* y *Saccharomyces bayanus* (Lindner, 1995).

#### **2.10. Elaboración de una base de helado y su calidad microbiológica**

En los últimos años, la sociedad se ha desplazado hacia el acceso y consumo de alimentos con un mayor nivel de información, lo que ha provocado un mayor interés sobre los alimentos que se ingieren, especialmente por su calidad, origen y posible efecto sobre la salud.

Con los cambios de hábitos alimentarios, las personas buscan alimentos naturales que estén mínimamente procesados, tengan una vida útil más larga y sean ricos en nutrientes (Güler & Gürsoy, 2011). Dentro de este grupo de alimentos se encuentra el helado, que según se afirma fue elaborado por los chinos hace 3000 años por primera vez, es uno de los productos lácteos más antiguos y preferidos en todo el mundo (Ammad *et al*, 2018). En la actualidad, sus ventas a nivel mundial aumentan casi un 5% cada año y han superado los 73.800 millones de dólares (Goff & Hartel, 2013). Contiene una variedad de ingredientes además de leche, sólidos lácteos, azúcar, agentes emulsificantes y estabilizantes, sabores debido a la adición de aditivos como frutas o frutos secos (Ammad *et al*, 2018). La elaboración de helados incluye principalmente cuatro pasos; preparación de mezcla, envejecimiento, congelación y endurecimiento. La fase de la mezcla consiste en los pasos de mezclar los ingredientes, pasteurización y homogeneización. Luego, la mezcla se enfría rápidamente a -4 °C para preservar la calidad bacteriológica, posteriormente se almacena durante 24 h, lo que se conoce como la fase de crianza donde todos los ingredientes se hidratan y la grasa se cristaliza. Tras el envejecimiento, el producto pasa a congelación a 15 °C. EL proceso final es el endurecimiento en donde se congela la mayor parte de agua a -18 °C. El helado es muy rico en nutrientes que proporcionan un ambiente de crecimiento ideal para muchos microorganismos, al igual que su pH neutro (pH 6-7) y largos periodos de almacenamiento (Clarke, 2004). La calidad microbiológica del helado está determinada por bacterias mesófilas totales (TMAB), recuento de enterobacterias y presencia de microorganismos patógenos.

Los riesgos de higiene a lo largo del proceso de fabricación del helado pueden dividirse en riesgos primarios y secundarios. El primero está relacionado con la carga microbiana que aportan las materias primas y el segundo con las condiciones de funcionamiento en las distintas etapas de elaboración. Entre 2010-2015 un brote de listeriosis, que ocurrió en los Estados Unidos, en donde resultaron 10 casos, una tasa de hospitalización del 100% y tres muertes, se relacionó después de que a los

pacientes se le sirviera helado en un hospital (CDC, 2015; FDA, 2015). En 2015, Blue Bell retiró voluntariamente todos sus lotes después de que se contaminaran con *L. monocytogenes* (CDC, 2015; FDA, 2015). En julio 2022 el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) publicó sobre un brote de listeriosis, se notificaron 23 casos en 10 estados de personas infectadas; 22 personas fueron hospitalizadas y una murió. Se vinculó al consumo de helado en los comercios minoristas de Big Olaf, en restaurantes y en hogares. La mayoría de las personas que enfermaron viven en Florida. Se retiraron todos los lotes de los productos de helado de la marca Big Olaf contaminados con *L. monocytogenes*.

*L. monocytogenes* una bacteria Gram positiva que causa listeriosis, es un patógeno transmitido por los alimentos que está ampliamente distribuido en la naturaleza y se asocia principalmente con una enfermedad grave, a menudo, potencialmente mortal debido a su elaborado mecanismo de adaptación fisiológica. *L. monocytogenes* puede sobrevivir e incluso crecer en varios productos alimenticios en condiciones ambientales adversas, como un pH bajo, salinidad alta y temperatura baja (Angelidis *et al.*, 2010).

### **2.10.1. Incorporación del aceite esencial de limón en una base de helado como agente antimicrobiano**

Los aceites se están evaluando como fuentes potenciales de nuevos compuestos antimicrobianos y alternativas para la conservación de alimentos (Perdones, 2016). Entre ellos el aceite esencial de limón que es utilizado ampliamente en la industria cosmética y de alimentos. Algunas de sus moléculas han demostrado poseer actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas (Perdones, 2016).

Tomar & Akarca (2019), investigaron las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de helados preparados con los aceites esenciales de las cáscaras de limón. Encontraron que la muestra final tenía el menor número de bacterias aerobias mesófilas y psicrófilos totales, levaduras y moho. Además, las

bacterias del grupo coliforme total *Salmonella*, *E.coli*, *Listeria* y *S. aureus* estaban ausentes. El efecto antibacteriano del aceite esencial de limón se atribuyó a la concentración de los componentes que fueron el limoneno,  $\beta$ -pineno y  $\gamma$ -terpineno.

Para mantener los parámetros de calidad, los aceites esenciales podrían ser una gran opción para la industria láctea, ya que pueden utilizarse como agentes antimicrobianos y antioxidantes naturales, además de proveer sabor (Güler & Gürsoy, 2011).

### III. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, México ha sido considerado como uno de los mayores productores de cítricos del mundo, después de países como China, Brasil y Estados Unidos. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), México es el segundo exportador de limones y uno de los principales productores de las variedades de limón persa y limón mexicano (SAGARPA, 2017). El limón mexicano como fruta fresca es el de mayor importancia en el mercado nacional, así como a nivel industrial, es por ello que se demuestra la importancia de investigar y aprovechar al máximo este cítrico y sus productos derivados tales como, el aceite esencial, el cual se obtiene de la cáscara del fruto por diferentes métodos de extracción. Habitualmente en la industria alimentaria, la incorporación de estos aceites son una alternativa natural, que además de conferir sabor, presentan actividad antimicrobiana y antifúngica, evaluadas como una fuente potencial de nuevos compuestos antimicrobianos y una alternativa para preservación de alimentos (Perdones, 2016).

El aceite esencial de limón ha sido evaluado como una alternativa a los antimicrobianos químicos, y su actividad está relacionada con su composición química, la cual puede verse influenciada por métodos de cultivo, métodos de extracción y separación; se hace énfasis en los componentes que lo constituyen, especialmente en el quimiotipo limoneno, que tiene actividad antimicrobiana de amplio espectro demostrada contra *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *S. entérica* y *Saccharomyces bayanus* (Mohammadhosseini *et al.*, 2017).

Uno de los procesos más comúnmente utilizado en la extracción de aceites esenciales es la destilación en lote por arrastre con vapor, donde los volúmenes de producción son relativamente bajos, su implementación experimental incluso a escala laboratorio resulta relativamente costoso, un alto consumo energético, con el consecuente impacto ambiental (Carson, 2003).

Una posible alternativa para mejorar los problemas presentes en el proceso tradicional de extracción de aceite esencial, es el proceso de destilación en continuo por arrastre con vapor. Se trata de una nueva tecnología desarrollada por en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) que puede extraer aceite esencial por destilación de jugo de cítricos, reducir el consumo de energía, acortar el tiempo de proceso (4 h) y mejorar la eficiencia de recuperación de aceite hasta en un 90%. Reduce el consumo de vapor cerca de un 40% respecto al proceso convencional, tiene un menor impacto ambiental y permite la obtención de fracciones de aceites esenciales para facilitar su posterior purificación (Mancilla *et al.*, 2007).

Por lo que, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de las condiciones del proceso de destilación en continuo y por lote (control) por arrastre con vapor en las eficiencias de recuperación de aceite esencial del limón mexicano y su composición; así como determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón contra *Listeria innocua* (se elige esta cepa por cuestión de manipulación) en una base de helado e *in vitro*.

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Contrastar el proceso de la destilación en continuo y en lote por arrastre con vapor del jugo de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*), evaluando la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial obtenido contra *Listeria innocua*; así como su aplicación en una formulación de helado.

### **4.2. Objetivos específicos**

- 1.- Estudiar el efecto de las condiciones del proceso en la eficiencia de obtención de aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*), por destilación en continuo sin columna y con columna, así como en lote por arrastre con vapor.
- 2.- Determinar las características fisicoquímicas y cromatográficas del aceite esencial obtenido de la destilación en continuo sin y con columna, así como por lote por arrastre con vapor.
- 3.- Evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial obtenido de la destilación en continuo sin y con columna, así como por lote contra *Listeria innocua*.
4. Incorporar el aceite esencial obtenido de la destilación en continuo en una formulación de helado evaluando su actividad antimicrobiana contra *Listeria innocua*.

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Materiales**

#### **5.1.1. Reactivos y medios de cultivo**

Sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) (J.T. Baker), Agar Soya Tripticaseína (MCDLAB), extracto de levadura (BIOXION), Caldo Soya Tripticaseína (BD DIFCO), peptona de caseína (BD BIOXON), Xileno (MEYER®), etanol (96%), solución salina al 0.9% (PiSA ®), *Listeria innocua*.

#### **5.1.2. Material biológico**

El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) utilizado en este trabajo para llevar a cabo la destilación en continuo y la destilación en lote por arrastre de vapor fue obtenido del mercado de abastos en la ciudad de Guadalajara, Jalisco, el cual se encontraba en buen estado y ausencia de golpes o daños visibles, así como de crecimiento fúngico.

La cepa *Listeria innocua* utilizada en este estudio pertenece al cepario del Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

### **5.2. Métodos**

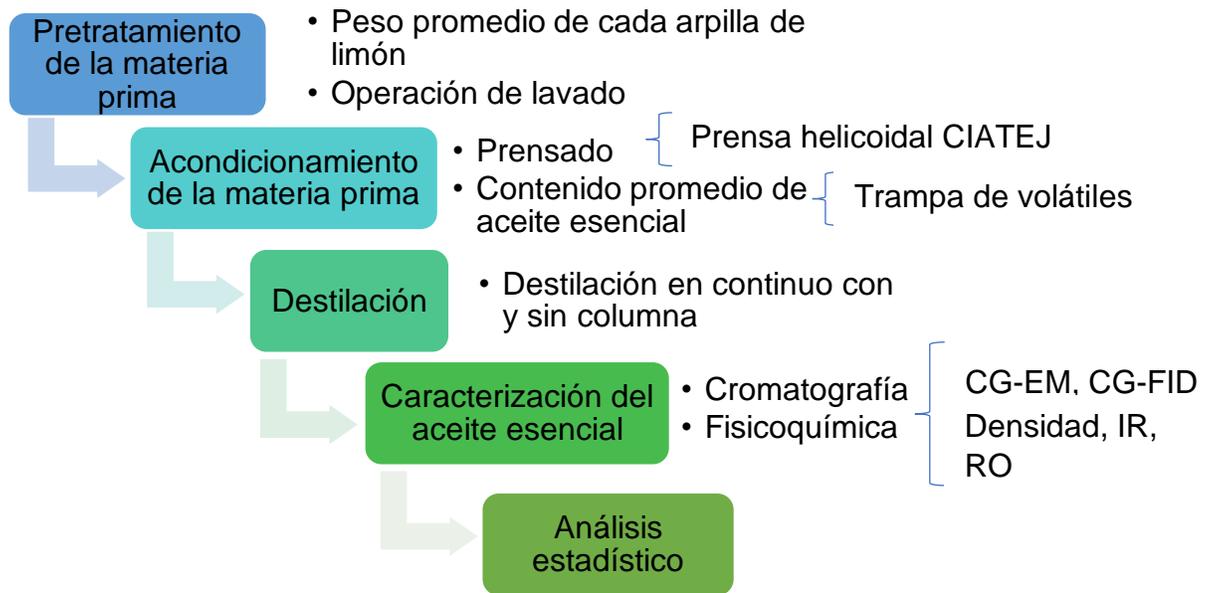
#### **5.2.1. Extracción del aceite esencial**

La extracción de aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) se realizó por el método de destilación en continuo y destilación en lote por arrastre con vapor. El estudio de destilación se dividió en dos partes, la primera centrada en la

destilación en continuo sin columna y con columna, la segunda enfocada en la destilación en lote.

Se siguió una metodología general para cada proceso utilizando diferentes métodos (Figura 5.1 y 5.2). Se planteó una estrategia en la que se consideró un tren de procesos en las destilaciones, tomando ambos procesos por separado y se partió de la misma materia prima para cada caso.

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ).



**Figura 5.1** Metodología general para la destilación en continuo con y sin columna.



**Figura 5.2** Metodología general para la destilación en lote.

## 5.2.2. Pretratamiento de la materia prima

### 5.2.2.1. Peso promedio de cada arpilla de limón

Se procedió a pesar las diferentes arpillas que conformaban el lote de la materia prima. Una vez hecho el pesaje de cada arpilla se pasó al proceso de lavado (Ruiz, 2008).

### 5.2.2.2. Operación de lavado

Se realizó un lavado de manera manual con agua corriente y agua destilada para prevenir que inertes como tierra, polvo, algunos insectos o microorganismos llegaran a intervenir en las operaciones posteriores. Al realizar el lavado del limón se continuó con el proceso de prensado para así obtener el aceite concentrado en el jugo de limón (Ruiz, 2008).

### 5.2.3. Acondicionamiento de la materia prima

#### 5.2.3.1. Prensado en helicoides

Para mejorar el rendimiento de extracción del aceite esencial se realizó una etapa de triturado previo a la destilación utilizando una prensa helicoidal de la planta piloto de alimentos del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), la cual se muestra en la Figura 5.3. Se procedió a procesar el fruto completo a 120 rpm con el fin de concentrar el aceite en el jugo por medio de la expresión mecánica del mismo por medio de la helicoides que transporta y presiona el fruto contra las paredes internas del equipo con un índice de compresión de 1.5, liberando el aceite esencial (AE) y de esta manera cambiar la matriz de extracción de sólido a líquido, facilitando así la alimentación del equipo de destilación en continuo. Una vez que el fruto comprimido salió del equipo, esta operación se repitió dos veces para aumentar la cantidad de aceite que pudiera ser recuperado en el jugo (Padilla *et al*, 2007). El jugo resultante del proceso se sometió a hidrodestilación en una trampa de volátiles. La razón de realizar este procedimiento fue para obtener una validación amplia del equipo de destilación en continuo y del proceso con condiciones diferentes de materia prima incluso a las que se trabajan en la industria.



**Figura 5.3** Prensa helicoidal localizada en CIATEJ, imagen obtenida de Huerta (2009).

### 5.2.3.2. Determinación del contenido promedio de aceite esencial

Para determinar el contenido de aceite esencial se utilizó el equipo descrito en la Norma Francesa NF V 03-409-1983 (ANEXO I), en el cual se realizaron hidrodestilaciones del jugo a estudiar obtenido del prensado (antes de pasar por el proceso de destilación), así como del jugo residual (después de pasar por el proceso de destilación). El contenido de aceite volátil fue cuantificado de acuerdo al volumen recuperado para cada prueba (Figura 5.4).



**Figura 5.4** Hidrodestilación a nivel laboratorio.

### **5.3. Destilación**

#### **5.3.1. Destilación en continuo por arrastre con vapor**

Una vez que se obtuvo el peso total del jugo de limón con ayuda de la prensa helicoidal, se procedió a realizar la destilación. Para este fin fue posible utilizar el proceso y el equipo de destilación en continuo en CIATEJ (Figura 5.6) (Vega, 2001). Para alimentar el equipo con el aceite concentrado en el jugo de limón obtenido en el proceso de prensado, se utilizó una bomba peristáltica Masterflex modelo 77200-62 (Figura 5.5), manteniendo un flujo constante de alimentación alrededor de 250 mL/min. Para comenzar con la fase dinámica del proceso primeramente se llenó con la suspensión previamente obtenida (60 L), una vez que el equipo alcanzó su temperatura de destilación (95 °C), se continuó el proceso durante 4 h. Posteriormente se continuó con la fase estacionaria del proceso de destilación, en las siguientes pruebas el equipo se mantuvo inundado con la suspensión de las pruebas anteriores, obteniéndose cinco fracciones de aceite esencial tanto en la fase dinámica como en la fase estacionaria ya que el equipo está dividido en etapas, las cuales cuentan con su propio condensador con sistema de enfriamiento y se encuentran comunicadas a peras de decantación en donde es captado el flujo de entrada de aceite con agua y un flujo de destilado de salida (hidrolato) el cual fue monitoreado cada 30 minutos para asegurar un flujo constante, modificando y manejando de manera manual a través de un sistema de válvulas independientes en donde es inyectado vapor de agua con determinada presión en cada etapa del destilador de acuerdo a cada tratamiento. Se llevó a cabo la destilación en continuo sin columna utilizando un flujo de destilado de 30, 20 y 10 mL/min y con columna la cual fue llenada con perlas de vidrio lo que proporciona mayor contacto líquido-gas, utilizando un flujo de destilado de 20, 15 y 10 mL/min (Tabla 5.1 y 5.2) (Padilla *et al*, 2007).

El aceite esencial obtenido se colocó en frascos ámbar de vidrio, se procedió a remover la posible humedad remanente que tuviera añadiendo sulfato de sodio

anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se almacenaron a 4 °C hasta su utilización para posteriores análisis.



**Figura 5.5** Bomba peristáltica



**Figura 5.6** Equipo de destilación en continuo en CIATEJ. Imagen obtenida de (Padilla *et al*, 2007).

**Tabla 5.1** Características del proceso de destilación en continuo sin columna.

<b>Tratamiento</b>	<b>Flujo de destilado mL/min</b>	<b>Flujo de alimento mL/min (F)</b>	<b>Fase de la destilación</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Presión vapor (kg/cm<sup>2</sup>)</b>
Sin columna (sc)	30	250	Dinámica	4	0.6
Sin columna (sc)	30	250	Estacionaria	4	0.6
Sin columna (sc)	30	250	Estacionaria	4	0.6
Sin columna (sc)	20	250	Dinámica	4	0.4
Sin columna (sc)	20	250	Estacionaria	4	0.4
Sin columna (sc)	20	250	Estacionaria	4	0.4
Sin columna (sc)	10	250	Dinámica	4	0.2
Sin columna (sc)	10	250	Estacionaria	4	0.2
Sin columna (sc)	10	250	Estacionaria	4	0.2

Fuente: Padilla *et al*, (2011).

**Tabla 5.2** Características del proceso de destilación en continuo con columna.

<b>Tratamiento</b>	<b>Flujo de destilado mL/min</b>	<b>Flujo de alimento mL/min (F)</b>	<b>Fase de la destilación</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Presión vapor (kg/cm<sup>2</sup>)</b>
Con columna (cc)	20	250	Dinámica	4	0.4
Con columna (cc)	20	250	Estacionaria	4	0.4
Con columna (cc)	20	250	Estacionaria	4	0.4
Con columna (cc)	15	250	Dinámica	4	0.3
Con columna (cc)	15	250	Estacionaria	4	0.3
Con columna (cc)	15	250	Estacionaria	4	0.3
Con columna (cc)	10	250	Dinámica	4	0.2
Con columna (cc)	10	250	Estacionaria	4	0.2
Con columna (cc)	10	250	Estacionaria	4	0.2

Fuente: Padilla *et al*, (2011).

### 5.3.2. Destilación en lote por arrastre con vapor a escala laboratorio

La destilación en lote por arrastre con vapor se realizó a nivel laboratorio utilizando un alambique con capacidad operativa de 5 L ubicado en el CIATEJ, el cual funciona de forma similar al proceso encontrado en la industria (Kimball, 2002) (Figura 5.7). El aceite concentrado en el jugo de limón obtenido en el proceso de prensado se colocó en el alambique, en donde se vertieron 4 L de jugo; una vez colocado el jugo se cerró herméticamente (para evitar posibles fugas) y se colocó el cuello de cisne que conduce la mezcla de vapores al condensador donde, a la salida de éste se encontraba un vaso florentino, siendo su función recibir los condensados (separación del aceite esencial del agua) y obtener el aceite esencial y a la vez las aguas aromáticas. La duración del proceso fue de 4 h, con una presión vapor de 0.6 kg/cm<sup>2</sup> con un flujo de destilado de 30 mL/min y una temperatura dentro del alambique de 96 °C (Guenther *et al*, 1985). Las características del proceso se muestran en la Tabla 5.3. Los tratamientos se realizaron por duplicado, con la finalidad de tener un punto de comparación con respecto a la destilación en continuo.

Una vez obtenido el aceite esencial, se procedió a remover la posible humedad remanente que tuviera añadiendo sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y almacenado en frascos ámbar a 4 °C para su posterior uso (Guenther *et al*, 1985).

**Tabla 5.3** Características del proceso de destilación en lote a nivel laboratorio.

Tratamiento	Flujo de destilado (mL/min)	Volumen de alimento (L)	Tiempo (h)	Presión de vapor (kg/cm <sup>2</sup> )
Lote	30	4	4	0.6
Lote	30	4	4	0.6

Fuente: Alfaro (2010); Padilla *et al.*, (2011).



**Figura 5.7** Alambique con aislante térmico, condensador y vaso florentino a nivel piloto para destilación con arrastre con vapor. Imagen obtenida de Huerta (2009).

### **5.3.3. Balance de masa del proceso de destilación**

Con base en los datos monitoreados del proceso de la destilación se efectuó un balance de masa para estimar el consumo de vapor (Figura 5.8) de la siguiente forma:

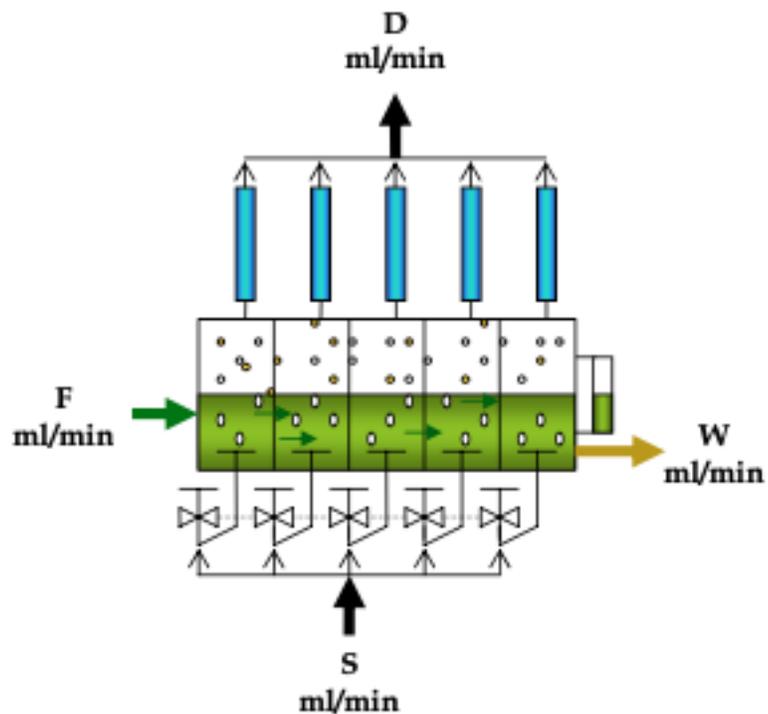
$$F + S = D + W$$

F= Mililitros por minuto de alimento que entra al equipo de destilación.

S=Mililitros por minuto de vapor de agua que entra al equipo de destilación necesarios para el arrastre.

D= Mililitros por minuto de agua y aceite que salen del equipo de destilación.

W= Mililitros por minuto de residuo que sale del equipo de destilación.



**Figura 51.8** Diagrama de balance de masa global del proceso. Imagen obtenida de Alfaro (2010).

#### 5.3.4. Rendimiento del aceite esencial de limón

El rendimiento de los aceites esenciales se define como la relación en gramos de aceite esencial obtenido con respecto a la cantidad en gramos de la muestra utilizada y fue calculado mediante la expresión (Ceballos, 2012).

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{m_{a.e}}{m_{MV}} \times 100$$

Donde:

$m_{a.e}$  = masa de aceite esencial, g.

$m_{MV}$  = masa de materia vegetal, g.

### **5.3.5. Caracterización fisicoquímica del aceite esencial**

Para caracterizar el aceite esencial obtenido en el proceso de destilación en continuo y en lote se realizaron las siguientes determinaciones:

#### **5.3.5.1. Determinación de la densidad relativa**

La determinación de la densidad relativa se realizó según la Norma francesa NF T 75-111 coincidente con la norma internacional ISO 279-1981, publicada por la Organización Internacional de Normalización.

Para realizar la medición primero se hizo uso de un termómetro de mercurio de inmersión -20 a 150 °C para garantizar que cada muestra estuviera a 20 °C como lo establece la Norma. Posteriormente, para determinar la densidad se utilizó un densímetro digital portátil de la marca Density2Go (Figura 5.9), el cual funciona mediante un capilar en forma de "U", que está rodeado de sensores que miden la oscilación y velocidad del líquido dentro del equipo, el analizador realiza el cálculo de los datos y muestra la lectura en el display del instrumento. Antes de iniciar con cada una de las mediciones el equipo fue previamente calibrado, se introdujo el tubo de medición del densímetro directamente en la muestra tomando 5 mL de aceite esencial de cada fracción obtenida de la destilación en continuo y de las muestras de la destilación en lote. Las lecturas se hicieron por triplicado de cada una de las muestras del aceite esencial.



**Figura 5.9** Densímetro digital portátil de la marca Density2Go

### **5.3.5.2. Determinación del índice de refracción**

La determinación del índice de refracción se llevó a cabo conforme a la Norma francesa NF T 75-111, en correspondencia con la norma internacional ISO 280-1776, publicada por la Organización Internacional de Normalización.

Para determinar del índice de refracción el cual se debe realizar a 20 °C, se usó el refractómetro ABBE de la marca Leica modelo Mark II plus (Figura 5.10), el mismo que se colocó sobre una superficie limpia y plana; primero se abrió y se limpió con agua destilada el cristal del porta muestras, una vez limpio, se colocaron pequeñas gotas de aceite esencial sobre el cristal formando una pequeña película de aceite, se cerró el porta muestras y se abrió el conducto de entrada de luz para visualizar mejor, el refractómetro se calibró con ayuda de las perillas y se procedió a realizar la lectura de datos. El refractómetro funciona mediante el uso de un prisma de iluminación y otro de refracción, al iluminar el prisma y en consecuencia la muestra, la luz pasa a través del mecanismo interno del equipo mostrando el campo de visión, en el que se busca el ángulo crítico y el instrumento calcula la relación de los ángulos reflejando la medición. Las lecturas se hicieron por triplicado en cada una de las muestras del aceite esencial obtenido de la destilación en continuo y de la destilación en lote.



**Figura 5.10** Refractómetro ABBE de la marca Leica modelo Mark II plus.

### **5.3.5.3. Determinación del poder rotatorio**

La determinación del poder rotatorio se realizó conforme la Norma francesa NF V 75-113 en concordancia con la norma internacional ISO 592-1981, publicada por la Organización Internacional de Normalización.

Para este análisis se tomaron 10 mL de aceite esencial de cada una de las fracciones disponibles de la destilación en continuo y de la destilación en lote, el aceite se colocó en un tubo de observación de 100 mm (Figura 5.11) dentro del polarímetro POLAX-2L de la marca ATAGO (Figura 5.12), el cual cuenta con una lámpara LED que actúa como fuente de luz y un filtro que asegura una longitud de onda de 589 nm, equivalente a la línea D del sodio con una exactitud de medición de  $\pm 0.10^\circ$ . El haz de luz atraviesa la celda con muestra en el interior mostrando en el campo de visión la desviación de la luz y el analizador digital permite tener la lectura de dicha desviación. Las lecturas se hicieron por triplicado de cada una de las muestras del aceite esencial.



**Figura 5.11** Tubo de observación de 100 mm para el polarímetro.



**Figura 5.12** Polarímetro POLAX-2L de la marca ATAGO.

### 5.3.6. Caracterización cromatográfica del aceite esencial

Para identificar los componentes volátiles de interés, muestras control y fracciones seleccionadas fueron inyectadas mediante un autoinyector en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B acoplado a espectrómetro de masas 5977A (GC-EM) y equipado con un detector de ionización de flama (FID) (Figura 5.13). La separación de los componentes se efectuó en una columna capilar HP-5MS (30m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.25  $\mu\text{m}$ ). El horno fue programado inicialmente a 75  $^{\circ}\text{C}$ , incrementando hasta 195  $^{\circ}\text{C}$  con un gradiente de 3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , enseguida se elevó a 270  $^{\circ}\text{C}$  a razón de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , manteniendo 12.5 min. El flujo del gas acarreador (He) fue de 0.8 mL/min. El volumen de inyección fue de 0.4  $\mu\text{l}$  en modo split a una temperatura de 250  $^{\circ}\text{C}$ . El detector se mantuvo a una temperatura de 270  $^{\circ}\text{C}$ , operando a 70 eV. La identificación de los compuestos se basó en la comparación de espectros de los picos en las muestras con los de la biblioteca NIST14L, índices de retención de la bibliografía y cuando fue posible mediante la inyección de estándares puros. Posteriormente, todas las muestras fueron analizadas en el mismo equipo con detección de ionización de flama bajo las mismas condiciones de separación cromatográfica que CG-EM. Los flujos de aire e hidrógeno para el detector fueron de 350 y 35 mL/min, respectivamente. La cuantificación de los compuestos de interés se reportó en base al área de los picos (unidades de área) obtenida del análisis CG-FID.



**Figura 5.13** Sistema cromatográfico de gases Agilent Technologies 7890B (CG-EM-FID).

## 5.4. Análisis microbiológico

### 5.4.1. Preparación de las diferentes concentraciones de aceite esencial para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón

Para llevar a cabo el análisis de la actividad antimicrobiana se prepararon concentraciones a 0.1, 0.2 y 0.3% (Tomar & Akarca, 2019) del aceite esencial de limón obtenido de la destilación en continuo del tratamiento sc30 y cc20 la fracción 1 (F1), fracción 3 (F3), fracción 5 (F5) y de la destilación por lote como control de referencia. Se tomó aceite esencial puro (100%) y se colocó en un matraz aforado de 5 mL, en el mismo momento del ensayo, usando etanol al 70% como solvente (Tabla 5.4). Las muestras fueron colocadas en frascos ámbar previamente esterilizados para proteger de la luz (Martínez *et al.*, 2003).

**Tabla 51.4** Concentraciones de aceite esencial para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón.

Muestras	Concentración de AE de limón (% v/v)
lote (control)	0.1
	0.2
	0.3
sc30-cc20 F1	0.1
	0.2
	0.3
sc30-cc20 F3	0.1
	0.2
	0.3
sc30-cc20 F5	0.1
	0.2
	0.3

Fuente: (Martínez *et al.*, 2003)

#### **5.4.2. Preparación del inóculo**

Se partió de una conserva de la cepa *Listeria innocua* almacenada a  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se realizó la activación en 5 mL de caldo de Soya Trypticaseína, de donde se tomó una asada y se incubó a  $37\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Posteriormente se realizó la resiembra al 1% v/v y se incubó a  $37\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se realizaron de manera aséptica diluciones en serie en solución salina (0.9%) hasta  $10^8$ . El nivel de inoculación de la cepa de *Listeria* se determinó mediante siembra directa en medio de Agar Soya Trypticaseína.

#### **5.4.3. Actividad antimicrobiana *in vitro***

La técnica utilizada para el análisis de la actividad antimicrobiana fue mediante el método de difusión en disco. El inóculo bacteriano se sembró en placas de Agar Soya Trypticaseína (TSA) utilizando un asa de digralsky estéril para conseguir un crecimiento microbiano uniforme, con un nivel de población bacteriano de  $7.9\text{ log ufc/g}$  previamente estandarizado. A las placas inoculadas con la bacteria se les colocaron discos de papel filtro (6 mm de diámetro) donde se aplicaron 5  $\mu\text{l}$  de cada una de las concentraciones previamente realizadas del aceite esencial en el papel. Se utilizó etanol al 70% en uno de los discos de papel filtro como control negativo. A continuación, las placas se incubaron de manera invertida a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. La prueba fue realizada por triplicado (Pardo *et al*, 2017).

Una vez culminado el tiempo de incubación se retiraron las placas de la estufa y se procedió a examinar individualmente verificando la presencia de zonas de inhibición de crecimiento bacteriano visualizándose de mejor manera al contrastar las placas contra una superficie oscura, se midió el diámetro del halo de inhibición usando un vernier digital, reportando los valores en milímetros (Cavalieri *et al.*, 2005).

## 5.5. Elaboración del helado

Para la elaboración del helado los ingredientes que se utilizaron fueron, leche entera de la marca ALPURA®, crema batida Lyncott, leche en polvo, azúcar, emulsificante y estabilizante. Primero se pesaron cada uno de los ingredientes para cada una de las mezclas, posteriormente se hizo la disolución completa de los ingredientes secos en los materiales líquidos; luego las mezclas se homogeneizaron durante 15 minutos utilizando un ULTRA-TURRAX® T-25 a 16000 rpm, una vez realizada la homogeneización se llevó a cabo la pasteurización de acuerdo a lo establecido por la Norma Mexicana NOM-243-SSA1-2010 durante 30 minutos a 63 °C en un baño de agua. Se realizaron tres mezclas para cada tratamiento, las primeras tres mezclas fueron inoculadas con *L. innocua* con un nivel de población de 7.64 log ufc/g, las siguientes tres mezclas se inocularon con el mismo nivel de población de *L. innocua* más aceite esencial de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo del tratamiento sc30 de la fracción 1 con una proporción de 0.3% y la otra porción se dejó como control (Tabla 5.5). Las mezclas se enfriaron rápidamente a 4 °C después de haber pasado por el proceso de pasteurización y se envejecieron a 4 °C durante 18 horas. Una vez transcurrido el tiempo de envejecimiento, las mezclas se batieron de manera manual durante 90 minutos cada una para producir un mejor cuerpo y textura. Finalmente, se agregaron 10 g de cada muestra en bolsas estériles y se almacenaron a temperatura de congelación de -18 °C (Mastronicolis *et al*, 2011).

**Tabla 5.5** Preparación del helado inoculado con *L. innocua* y aceite esencial de limón.

	Muestras
Helado 1	<i>Listeria innocua</i> (HL)
Helado 2	<i>Listeria innocua</i> + AE de limón (0.3%) (HLAE)
Helado 3	Base del helado (H)

Fuente: (Mastronicolis *et al*, 2011).

### 5.5.1. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón en el helado inoculado con *L. innocua*

El procedimiento se aplicó de acuerdo con el Manual Analítico Bacteriológico de la FDA (Hitchins, 2011).

Se transfirieron 90 mL de agua de peptona tamponada (0.1%) previamente esterilizada a cada una de las bolsas que contenían los 10 g de helado y se homogeneizaron a través de un Stomacher (BagMixer® 400 P) durante 60s. El homogeneizado se preparó para diluciones en serie diluidas (10 veces) hasta  $10^4$  y se sembraron mediante la técnica de placa extendida en el medio selectivo Agar Soya Trypticaseína suplementado con extracto de levadura al 0.6% y se incubaron a 37 °C durante 48 horas. Se realizó la prueba por triplicado (Tabla 5.6).

La supervivencia de *L. innocua* se detectó en el helado en el momento de la inoculación (tiempo cero), diariamente durante la primera semana, luego al día diez y día veinte de almacenamiento.

**Tabla 5.6** Tiempo de incubación de *L. innocua* en el helado durante el almacenamiento en congelación a -18 °C.

Período de incubación
Tiempo cero
Día 1
Día 2
Día 3
Día 4
Día 5
Día 6
Día 7
Día 10
Día 20

## 5.6. Diseño experimental

Se realizó un diseño trifactorial anidado para el caso de la destilación en continuo con y sin columna. Los factores fueron, el flujo de destilado, sin columna (sc) o con columna (cc) y el número de fracción. En este caso el flujo de destilado se encuentra anidado en la destilación sin y con columna, es decir, se contrasta si los niveles del factor anidado (flujo de destilado) son iguales o no dentro de cada uno de los niveles del factor (sin y con columna) en el que están anidados de manera individual. Por lo que, el flujo de destilado fue dependiente de la destilación con y sin columna. Las variables de respuesta fueron, el rendimiento por el proceso de aceite esencial (%), gasto de vapor (kg de vapor/kg de jugo), la concentración de los diferentes compuestos presentes en las fracciones (%), la calidad del aceite esencial en relación a los parámetros fisicoquímicos (densidad, rotación óptica e índice de refracción) (Tabla 5.7).

Para los tratamientos se realizaron dos réplicas para cada uno. En la comparación de varianzas se usó la prueba Fligner-Killeen. Se realizó la prueba de Kruskal Wallis para determinar si existen diferencias entre tratamientos y la prueba post hoc de Dunn para comparaciones múltiples, ajustando el p-valor por multiplicidad.

**Tabla 5.7** Diseño trifactorial anidado.

Factores	Sin columna (sc)			Con columna (cc)		
Flujo de destilado (mL/min)	30	20	10	20	15	10
Número de fracción	F1	F1	F1	F1	F1	F1
	F2	F2	F2	F2	F2	F2
	F3	F3	F3	F3	F3	F3
	F4	F4	F4	F4	F4	F4
	F5	F5	F5	F5	F5	F5

Para evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de limón se realizó un diseño trifactorial. Los factores fueron, el número de fracción, la concentración de aceite esencial y la destilación con y sin columna. La variable respuesta, inhibición del crecimiento de *Listeria innocua* (Tabla 4.8).

Los tratamientos se realizaron por triplicado. Los datos se expresaron en promedios  $\pm$  la desviación estándar, las diferencias estadísticas se compararon a un valor  $p < 0.05$  con análisis de varianza y prueba de múltiples rangos de Dunnett's.

**Tabla 5.82.** Diseño trifactorial.

Factores	Sin columna (sc) 30 mL/min			Con columna (cc) 20 mL/min		
	F1	F3	F5	F1	F3	F5
Número de fracción						
Concentración de aceite esencial (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

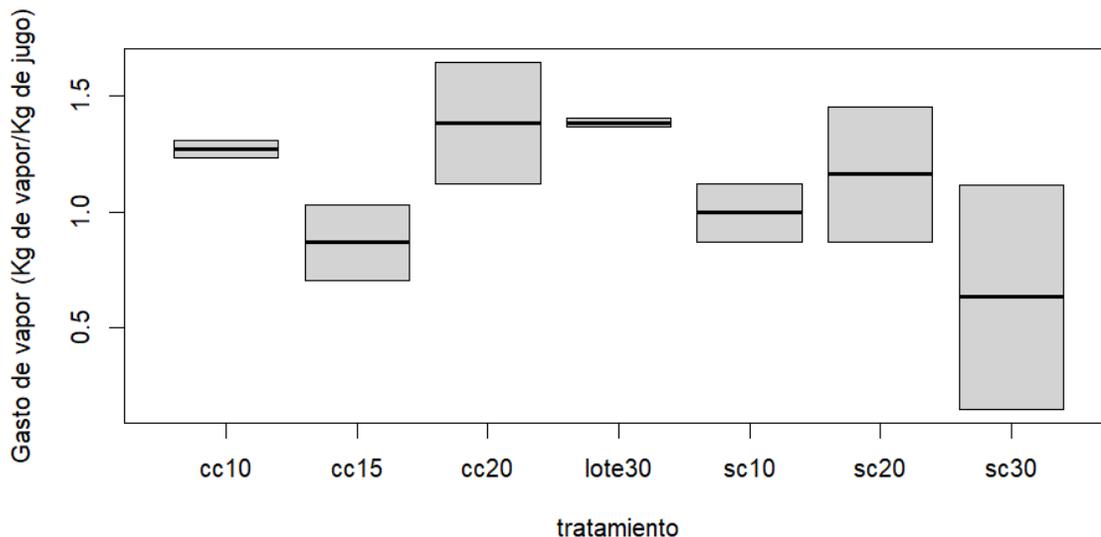
### 6.1. Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

Se llevó a cabo el proceso de destilación en continuo con columna (cc) y sin columna (sc) para la obtención de aceite esencial (AE) usando como modelo el jugo de limón mexicano, debido a que se deseaba saber el gasto de vapor durante el proceso utilizando estos tratamientos, así como determinar el rendimiento de AE en el proceso de destilación global y fraccionado, comparado con la destilación en lote. En la Tabla 6.1 se observa el gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre de vapor en los diferentes tratamientos empleados con y sin columna.

**Tabla 6.1** Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

Tratamiento (mL/min)	Gasto de vapor (Kg de vapor/Kg de jugo)
sc30	0.63±0.69
sc20	1.16±0.41
sc10	1.00±0.18
cc20	1.38±0.37
cc15	0.87±0.23
cc10	1.27±0.05
lote (control)	1.39±0.03

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna.



**Figura 6.1.** Gasto de vapor en la destilación en continuo por arrastre por vapor con columna y sin columna.

En la Figura 6.1 se observa el gasto de vapor durante la destilación en continuo con columna y sin columna comparado con la destilación en lote (control). A pesar de que descriptivamente se aprecian cambios de medianas, se realizó la prueba Kruskal-Wallis la cual nos indicó que no hubo una diferencia entre tratamientos desde el punto de vista estadístico con un p-valor de 0.297. Otro aspecto importante es que se apreciaron diferencias entre varianzas al cambiar de tratamiento, esto se confirmó estadísticamente mediante la prueba de homogeneidad de varianzas Fligner-Killeen con un p-valor de 0.04415 lo que evidenció que las varianzas no son iguales entre los tratamientos. Lo anterior, es una evidencia fuerte que nos indica que se presentó una inestabilidad del proceso en el manejo de los flujos de vapor en el equipo ya que su regulación se realizó de manera manual (el equipo continúa en proceso de validación), lo cual repercutió en los valores experimentales obtenidos, así como el suministro de vapor que provenía directamente desde la caldera que se detuvo en las pruebas experimentales afectando de manera directa a los flujos de destilación en cada una de las fracciones; sin embargo, se tiene una

baja variabilidad en el tratamiento cc10 y lote los cuales se separan del resto de los tratamientos, mientras que el tratamiento sc30 se destaca por su alta variabilidad, lo que nos sugiere que a mayor flujo mayor inestabilidad durante el proceso.

A pesar de que no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos se tiene que para el tratamiento con columna (cc) al utilizar un flujo de destilado de 15 mL/min (cc15) se obtuvo un gasto de vapor de  $0.87 \pm 0.23$  kg vapor por kg de jugo menor a los otros dos tratamientos con columna con un flujo de destilado de 20 y 10 mL/min (cc20, cc10) con un gasto de vapor de  $1.38 \pm 0.37$  y  $1.27 \pm 0.05$  kg vapor por kg de jugo así como con el tratamiento control que fue la destilación en lote ( $1.39 \pm 0.03$  kg vapor por kg de jugo). Para los tratamientos que se realizaron sin columna el que resultó con un menor gasto de vapor fue el tratamiento con un flujo de destilado de 30 mL/min (sc30) con  $0.63 \pm 0.69$  kg de vapor por kg de jugo en comparación con los tratamientos de un flujo de destilado de 20 y 10 mL/min (sc20, sc10) con un gasto de vapor de  $1.16 \pm 0.41$  y  $1.00 \pm 0.18$  kg de vapor por kg de jugo respectivamente, siendo el mejor tratamiento sc30 al comparar con la destilación en lote, con lo que se esperaría que durante el proceso de destilación que a mayor flujo de vapor fuera mayor el gasto de vapor, sin embargo, durante la experimentación la toma del dato del flujo de vapor en el tratamiento sc30 se vio afectada por la inestabilidad del proceso en donde se mantuvo en constante ajuste de las válvulas de inyección de vapor afectando directamente en el consumo de vapor.

Los resultados obtenidos en este trabajo con los diferentes tratamientos con y sin columna fueron similares con los obtenidos en el trabajo de Manzano (2010) donde obtuvo valores experimentales en el rango de 0.39 a 0.93 kg de vapor por kg de jugo, siguiendo las mismas condiciones de extracción del presente trabajo, se obtuvo el gasto de vapor en el rango de  $0.63 \pm 0.69$  a  $1.38 \pm 0.37$  kg vapor por kg de jugo, menor al gasto de vapor en la destilación tradicional (lote) de  $1.39 \pm 0.03$  kg vapor por kg de jugo, lo que reflejó un ahorro sustancial de vapor en el proceso.

Por otra parte, es importante señalar que los tratamientos con un menor gasto de vapor en este trabajo fueron sc30 y cc15 y que el proceso se mantuvo más estable

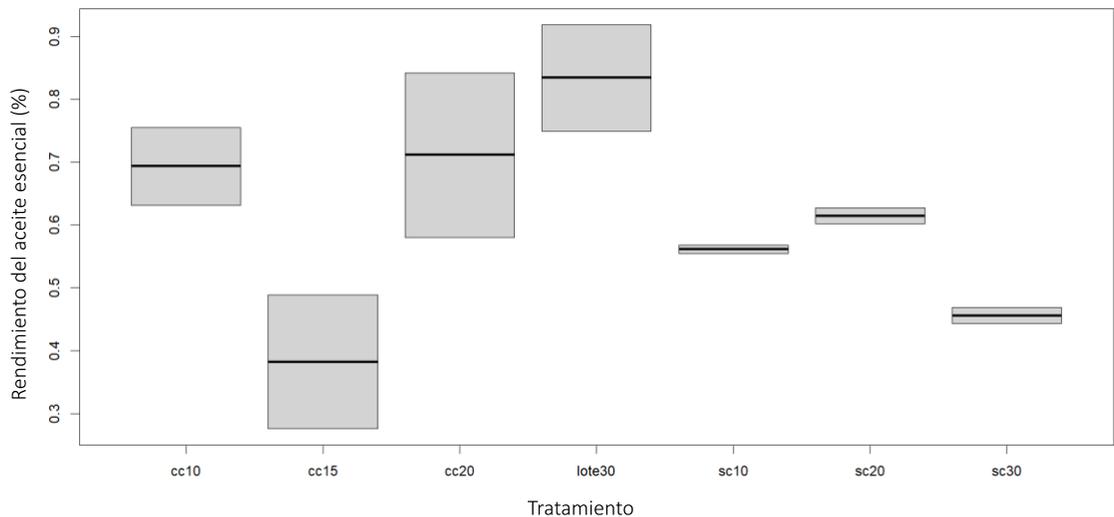
para el tratamiento cc10, en donde se puede concluir que podría ser conveniente trabajar a menores flujos de vapor con respecto al tradicional y tener como resultado un ahorro energético, así como un mayor rendimiento. En el trabajo de Masango (2005) se estudiaron diferentes tasas de flujos de vapor y encontró que al utilizar bajos flujos en la operación de la destilación por vapor se tenía un menor gasto energético en comparación al proceso tradicional seguido de un mayor rendimiento de aceite. Es importante tener en cuenta que si se aumenta la cantidad de flujo, mayor será la carga necesaria en el rehervidor, por lo tanto, aumenta el gasto energético y, en consecuencia, los costos de proceso. El uso de la columna puede favorecer para obtener un mayor rendimiento de aceite esencial. En el trabajo de Mistretta en 2012, informó que la columna cumple con ciertas características como maximizar el área de superficie específica (área por unidad de volumen), aumentar el área de contacto entre la fase gas y líquida para facilitar el intercambio de masa y así mejorar la eficiencia del proceso al promover una distribución uniforme de la corriente del flujo de líquido y gas a las superficies del equipo y secciones transversales de la columna, minimizar la acumulación de líquido y la contaminación, lo que aumenta la eficiencia del proceso, reduce las fracciones para reducir los costos operativos, maximiza el espacio disponible por unidad de volumen; reduce la resistencia al flujo de vapor, aumentando así la capacidad, logrando una resistencia uniforme al flujo de vapor y líquido a través de la columna y facilitando la extracción.

## 6.2. Rendimiento del aceite esencial por destilación en continuo con columna y sin columna

**Tabla 6.2** Rendimiento por tratamiento del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

Tratamiento (mL/min)	Rendimiento del AE (%)
sc30	0.46±0.02
sc20	0.61±0.02
sc10	0.56±0.01
cc20	0.71±0.19
cc15	0.38±0.15
cc10	0.69±0.09
lote (control)	0.83±0.12

Los valores representan el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. sc:sin columna. cc: con columna. AE: aceite esencial.



**Figura 6.22.** Rendimiento del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo por arrastre por vapor con columna y sin columna.

Basándose en el efecto del tratamiento sobre el rendimiento de aceite esencial de limón, en la Figura 6.2 se muestran los rendimientos totales de la destilación en continuo con y sin columna comparado con la destilación en lote (control). A pesar que descriptivamente se apreciaron cambios de medianas, se realizó la prueba Kruskal-Wallis la cual nos indicó que no hubo una diferencia entre tratamientos y el rendimiento de aceite esencial desde el punto de vista estadístico con un p-valor de 0.08376. Sin embargo, se apreciaron diferencias entre varianzas al cambiar de tratamiento, esto se confirmó estadísticamente mediante la prueba de homogeneidad de varianzas Fligner-Killeen con un p-valor de 0.04507 lo que indicó que las varianzas no son iguales entre los tratamientos. Para evaluar el efecto de la presión de vapor sobre el rendimiento de aceite esencial por el proceso de destilación, se manejaron diferentes flujos de destilado 10, 20 y 30 mL/min sin columna y con columna flujos de 10, 15 y 20 mL/min. El tiempo de destilación se midió mientras permaneció constante el espesor de la capa de aceite observado a la salida del vaso florentino. Los datos se tomaron cada 30 minutos. La duración de operación del proceso se estimó en 4 horas. Los resultados obtenidos son reportados en la Tabla 6.2.

Al aumentar el flujo de vapor en la destilación sin columna se disminuyó el rendimiento de extracción ( $0.46 \pm 0.02\%$ ), probablemente debido a la pérdida de aceite esencial a la atmósfera, debido a que la capacidad de condensación a este flujo (sc30) sobrepasó la temperatura del condensador a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, mantener un flujo constante de 20 mL/min (sc20) tuvo efecto importante sobre el rendimiento de aceite esencial de  $0.61 \pm 0.02\%$ , seguido de un flujo de destilado de 10 mL/min (sc10) que resultó un rendimiento del  $0.56 \pm 0.0\%$ , lo que fue significativo para el proceso a una temperatura de salida del condensador de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , respectivamente; por lo que se podría inferir, que el flujo de destilado influyó favorablemente en la transferencia de masa, es decir, del material vegetal hacia la fase vapor. Para el caso de la destilación con columna, cuando se utilizó un flujo de destilado de 15 mL/min el rendimiento disminuyó rápidamente con  $0.38 \pm 0.15\%$ ,

probablemente porque la fuerza que se obtuvo no fue la suficiente para arrastrar el aceite esencial hacia el intercambiador de calor, en cambio al utilizar un flujo de 20 y 10 mL/min (cc20, cc10), se tuvo un rendimiento de  $0.71\pm 0.19\%$  y  $0.69\pm 0.09\%$  respectivamente, siendo el de mayor rendimiento el tratamiento cc20 en comparación con el tratamiento control ( $0.83\pm 0.12\%$ ), lo cual indica que para el tratamiento cc20 el factor de reflujo tiene un menor impacto en la cantidad de destilado obtenido aunado a la mejora en la eficiencia energética y de extracción que representa el reflujo, esto en comparación con los tratamientos cc15 y cc10 que manejan flujos menores y por tanto el factor de reflujo se vuelve más significativo. De acuerdo con lo reportado de Mistretta (2012), menciona que la columna puede cumplir la función de promover el contacto de fases y el desarrollo de interfases donde ocurre la transferencia, facilitando la extracción de vapor desde la corriente líquida y aumentar el rendimiento en el proceso.

Masango (2005), informó que el rendimiento aumentó en el uso de un flujo de vapor más bajo y afirmó que el vapor en la destilación tiene dos usos, para proporcionar energía térmica, así como medio de transporte para el destilado. Por otra parte, Fitriady y colaboradores en 2017 estudiaron diferentes flujos de vapor encontrando que al utilizar un flujo bajo de vapor favorece la obtención de un mayor rendimiento de aceite y sugieren utilizar un alto flujo de vapor en la primera hora en que se inicia la destilación debido al rápido suministro de energía y luego continuar con el más lento flujo de vapor para extender el tiempo de retención de vapor y de esta manera obtener un mayor rendimiento. Factores como el origen de la planta, la especie, el clima y las condiciones de crecimiento (temperatura, fertilizante, tierra de cultivo), así como los métodos de extracción y las formas de producción, afectan la variación del rendimiento de los aceites esenciales (Blanco & Agudelo, 2007; Zekaria, 2006).

### 6.3. Rendimiento de aceite esencial por fracción

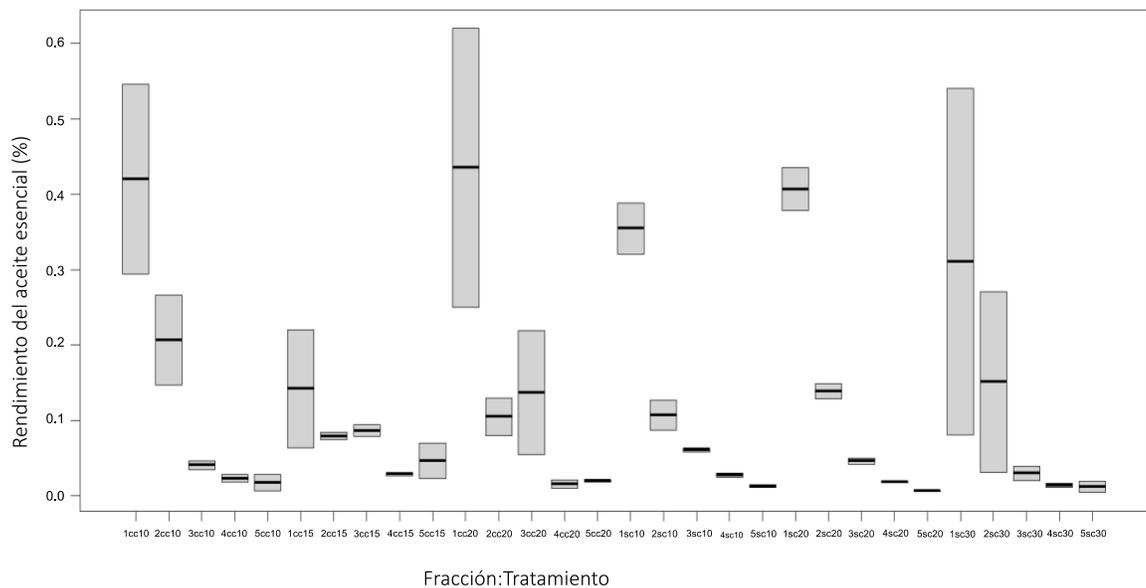
**Tabla 6.3** Rendimiento por fracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

Rendimiento del AE por fracción (%)					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	0.31±0.33	0.15±0.17	0.03±0.01	0.01±0.00	0.01±0.01
sc20	0.41±0.04	0.14±0.01	0.05±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00
sc10	0.35±0.05	0.11±0.03	0.06±0.00	0.03±0.00	0.01±0.00
cc20	0.44±0.26	0.10±0.03	0.14±0.12	0.02±0.01	0.02±0.00
cc15	0.14±0.11	0.08±0.01	0.09±0.01	0.03±0.00	0.05±0.03
cc10	0.42±0.18	0.21±0.08	0.04±0.01	0.02±0.01	0.02±0.02

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5. nc: debajo del límite de cuantificación. AE: aceite esencial.

En la Tabla 6.3 se puede observar que al utilizar los diferentes flujos de destilado con y sin columna se obtuvieron valores de rendimiento significativamente más altos en las primeras tres fracciones, después, el rendimiento no fue muy significativo en la fracción 4 y 5. Esto se debió a que el contenido de aceite esencial en el jugo de limón fue disminuyendo a través del destilador. Para el tratamiento sin columna sc20 se obtuvo un mayor rendimiento con un valor de 0.41±0.04% en la fracción 1, 0.14±0.01% para la fracción 2, 0.05±0.01% fracción 3, 0.02±0.00% fracción 4 y 0.01±0.00% fracción 5. Para los tratamientos con columna el de mayor rendimiento fue el tratamiento cc20 con un 0.44±0.26% en la fracción 1, 0.10±0.03% en la fracción 2, 0.14±0.12% en la fracción 3, 0.02±0.01% en la fracción 4 y 0.02±0.00% en la fracción 5. El tratamiento cc10 siguió con el mayor rendimiento de aceite solo para las fracciones 1 y 2 con 0.42±0.18% y 0.21±0.08%, respectivamente. Para la

fracción 4 y 5 el porcentaje de rendimiento fue más alto al utilizar el tratamiento cc15. Es importante observar que se tuvo una fuerte relación entre el flujo de vapor y la alimentación continua en cada una de las fracciones. Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los observados por Padilla *et. al.* (2007) y Campos (2019), en donde reportan que obtuvieron un alto rendimiento en las primeras dos fracciones y que al utilizar un bajo flujo de vapor les favoreció para obtener los mayores rendimientos de aceite esencial en cada una de las fracciones. Se concluye que al utilizar un flujo de 20 mL/min de destilado con y sin columna (sc20, cc20) y un flujo de 10 mL/min con columna (cc10) pueden ser parámetros favorables en el rendimiento de aceite esencial y un ahorro sustancial de energía al utilizar bajos flujos de vapor.



**Figura 6.3** Rendimiento por fracción del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

En la Figura 6.3 se tiene el rendimiento del aceite esencial por fracción en la destilación en continuo al utilizar diferentes flujos de vapor. Se observa que la fracción 1 mostró un mayor rendimiento en los diferentes flujos de vapor, pero

teniendo una gran variabilidad. Esto se puede deber a las pérdidas de aceite que se adhiere en las tuberías del equipo y de los vasos florentinos, impactando en la medida en que se recupera la cantidad de aceite en cada una de las corridas experimentales; pérdidas por operación debido a que la recuperación de cada una de las fracciones se realizaba de manera manual; pérdidas durante la separación en los vasos florentinos, por lo que, en dichos vasos el volumen es bajo para darle un tiempo de residencia adecuado a los destilados para realizar la separación total del aceite y el agua y no tener una amplia variabilidad al recuperar el aceite durante el proceso, así como también pudo haber influenciado el flujo de vapor en cada una de las fracciones, recordando que cada una de ellas cuenta con su propia válvula manual que permite el flujo de manera independiente, provocando una posible disminución en la transferencia de masa de los compuestos volátiles del material vegetal a la fase vapor y quizá actuar como una barrera provocando una pérdida de energía y condensarse en el interior del destilador, lo que significa que el vapor y el flujo de alimentación deben mantener la relación proporcional adecuada, lo cual se vuelve complicado al requerirse un control manual del equipo de destilación en continuo.

**6.4. Análisis fisicoquímico del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) obtenido de la destilación en continuo sin y con columna y por destilación por lote.**

Las características físicas del aceite esencial de limón mexicano que se obtuvieron a través de la destilación en continuo con columna y sin columna fueron: densidad, índice de refracción y rotación óptica.

**6.4.1. Densidad**

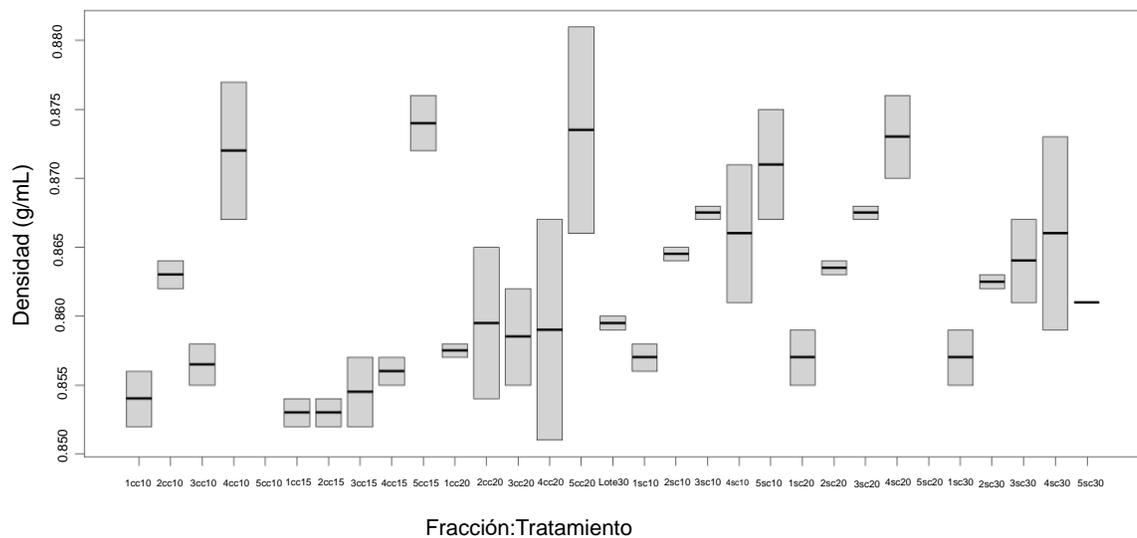
**Tabla 6.4** Densidad relativa del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

Densidad relativa (g/mL)					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	0.857±0.003	0.863±0.001	0.864±0.004	0.866±0.010	0.861±0.000
sc20	0.857±0.003	0.864±0.001	0.868±0.001	0.873±0.004	nc
sc10	0.857±0.001	0.865±0.001	0.868±0.001	0.866±0.007	0.871±0.006
cc20	0.858±0.001	0.860±0.008	0.859±0.005	0.859±0.011	0.874±0.011
cc15	0.853±0.001	0.853±0.001	0.855±0.004	0.856±0.001	0.874±0.003
cc10	0.854±0.003	0.863±0.001	0.857±0.002	0.872±0.007	0.871±0.006
lote (control)			0.860±0.001		
NMX-F- 062-1974			0.855-0.863		

Los valores representan el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4:fracción 4, F5: fracción 5. nc: debajo del límite de cuantificación.

Se muestran los parámetros obtenidos de densidad relativa (20 °C) en cada una de las fracciones al utilizar diferentes tratamientos en la extracción de aceite en la Tabla

6.4, se puede observar que para la destilación sin columna al utilizar los diferentes tratamientos no afectó la pureza del aceite ya que los parámetros obtenidos en la fracción 1, 2, 3, 4 y 5 de  $0.857\pm 0.003$  g/mL a  $0.871\pm 0.006$  g/mL. Para el caso de la destilación con columna, los rangos fueron de  $0.853\pm 0.001$  a  $0.874\pm 0.011$  g/mL de las cinco fracciones con los diferentes tratamientos, estos parámetros se encontraron cercanos a los obtenidos en la destilación por lote ( $0.86\pm 0.00$  g/mL) y dentro de los valores establecidos por la Norma Mexicana NMX-F-062-1974 de 0.855-0.863 g/mL. Resultados similares fueron encontrados por Quiroz (2009), obteniendo un rango de 0.851-0.855 g/mL; Horna (2015) obtuvo 0.8589 g/mL, Chirinos y Quispe (2018) obtuvieron 0.8620 g/mL, para el aceite esencial de limón peruano. Njoku y Evbuomwan (2014), obtuvieron un valor de 0.85 g/mL para el aceite de limón por el método de extracción Clevenger. Mientras que, Albaladejo (1999) que obtuvo 0.8534 g/mL para aceite de limón destilado por arrastre por vapor.



**Figura 6.4** Densidad relativa del aceite esencial obtenido del jugo de limón mexicano por destilación en continuo por arrastre de vapor con columna y sin columna.

En la Figura 6.4 se muestran los valores obtenidos al determinar la densidad a 20 °C. De manera descriptiva se aprecian cambios de medianas, se realizó la prueba

Kruskal-Wallis la cual nos indicó que hubo una diferencia de medias entre las fracciones al utilizar los diferentes tratamientos con y sin columna en la densidad con un p-valor de 0.03. Se puede observar que la fracción 5 es la que presentó un aumento en la densidad en comparación con el resto de las fracciones, pero cabe destacar que fue la fracción que presentó una mayor variabilidad. Lo anterior se pudo deber al bajo rendimiento obtenido de aceite esencial ya que en este punto de la destilación el aceite contenido en el jugo de limón ya estaba agotado casi en su totalidad, lo cual no favoreció para realizar el número de réplicas estimadas de mediciones. Durante las primeras horas del proceso de destilación se obtiene mayormente terpenos (limoneno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -felandreno y p-cimeno), y la presencia de compuestos oxigenados (linalol, geraniol, nerol, citronelol, citral y citronelal) para la etapa final de la destilación (Gamarra *et al*, 2006). Por lo tanto, en la gráfica se puede apreciar que la fracción 1 tuvo una densidad de  $0.857 \pm 0.003$  g/mL a  $0.854 \pm 0.003$  g/mL al utilizar los diferentes tratamientos con y sin columna, siendo estos valores similares para la fracción 2, 3 y 4 por lo que se podría inferir que durante el proceso de destilación son las fracciones con una cantidad mayoritaria de terpenos y para el caso de la fracción 5 refleja un aumento de la densidad a 0.874 g/mL lo que podría indicar que conforme pasa el tiempo de la destilación esta fracción se va enriqueciendo de compuestos oxigenado. De manera descriptiva se puede decir que los mejores tratamientos para un aumento de la densidad fueron el sc20 y sc10.

La densidad del aceite obtenido por medio de la destilación en continuo por arrastre con vapor con y sin columna fue semejante a los resultados por Becerra (2007), Manzano (2010) y Gómez (2009) que obtuvieron 0.857, 0.860 y 0.859 g/mL para limón mexicano por medio de la destilación en continuo por arrastre con vapor. El valor de densidad del aceite esencial obtenido en el presente trabajo indica calidad y pureza del aceite, de modo que no fue influenciado por el método utilizado de destilación, pero tomando en cuenta que podría variar dependiendo de la naturaleza

del fruto y condiciones climáticas del área geográfica que provenga (Albaladejo, 1999).

#### 6.4.2. Índice de refracción

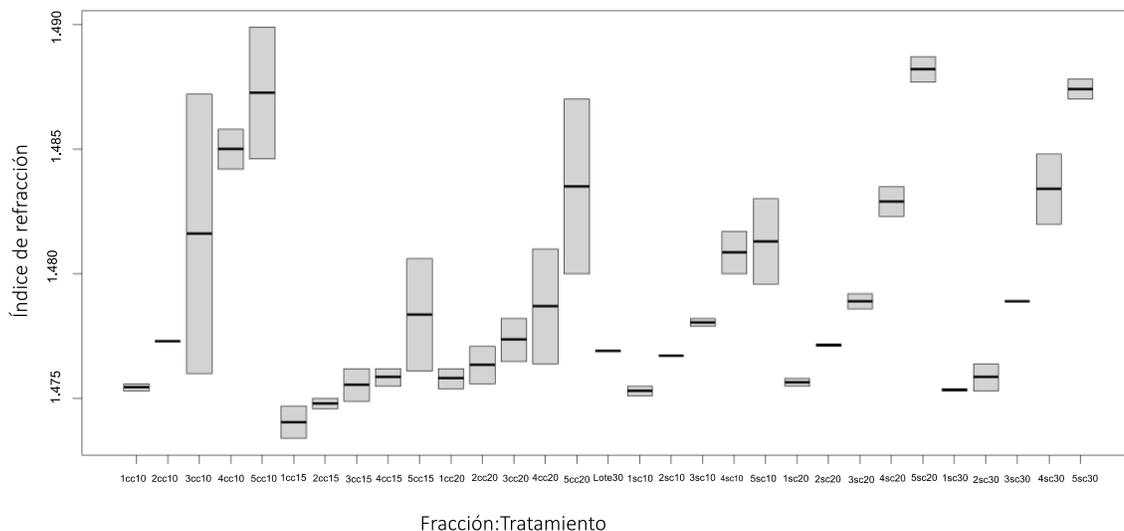
**Tabla 6.5** Índice de refracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna.

Índice de refracción					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	1.475±0.000	1.476±0.001	1.479±0.000	1.483±0.002	*1.487±0.001
sc20	1.476±0.000	1.477±0.000	1.479±0.000	1.483±0.001	*1.488±0.001
sc10	1.475±0.000	1.477±0.000	*1.478±0.000	*1.481±0.001	*1.481±0.002
cc20	1.474±0.001	1.476±0.001	1.477±0.001	1.479±0.003	*1.484±0.005
cc15	*1.475±0.000	1.475±0.000	*1.475±0.000	1.476±0.000	1.478±0.003
cc10	1.475±0.001	1.477±0.000	1.482±0.008	1.485±0.001	1.478±0.002
lote (control)	1.47±0.00				
NMX-F- 062-1974	1.4745-1.4770				

Los valores representan el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. Asterisco en superíndice expresan diferencia estadísticamente significativa en columnas de las medianas de los tratamientos mediante la prueba post hoc de Dunn, ajustada por método de Bonferroni ( $\alpha = 0.05$ ). sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5. nc: debajo del límite de cuantificación.

Como se observa en la Tabla 6.5 se obtuvieron valores en un rango de 1.475±0.000 a 1.488±0.001 de índice de refracción en los diferentes tratamientos por destilación en continuo sin columna (sc30, sc20, sc10) y de 1.475±0.001 a 1.485±0.001 por

destilación en continuo con columna con los diferentes tratamientos (cc20, cc15, cc10). La Norma Mexicana NMX-F-062-1974 establece que el índice de refracción del aceite esencial de limón a 20 °C se encuentra generalmente entre 1.4745-1.4770, parámetro que puede denotar la presencia de materia extraña. Los valores encontrados estuvieron dentro del rango especificado y correspondieron al parámetro de índice de refracción obtenido en la destilación por lote de  $1.47 \pm 0.00$ . Estos resultados concuerdan con lo reportado por Horna (2015) y Chirinos & Quispe (2018), que encontraron un valor de 1.4742, en el aceite esencial de limón peruano destilado por centrifugación y 1.4740-1.4780, por arrastre de vapor. De igual forma, Quiroz (2009), determinó para el limón ecuatoriano valores entre 1.4743-1.4757; mientras que Njoku & Evbuomwan (2014), determinaron un valor de 1.48 para limones nigerianos utilizando el método de destilación Clevenger. Granados *et al.*, (2012) indicaron que los aceites esenciales con un índice de refracción superior a 1.47 y una densidad superior a 0.9 g/mL contienen altas cantidades de compuestos oxigenados aromáticos.



**Figura 6.5** Índice de refracción del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna.

En la Figura 6.5 se grafican los resultados del índice de refracción (20 °C) del aceite esencial obtenido de la destilación en continuo con y sin columna. Se puede

observar que las fracciones 4 y 5 fueron las que presentaron un mayor índice de refracción en los diferentes tratamientos en comparación con la fracción 1, 2 y 3, tomando en cuenta que, al ir aumentando de fracción mayor fue la variabilidad salvo en el caso del tratamiento sc20 y un tanto el tratamiento sc30 (sin mostrar una variabilidad creciente). La variabilidad puede deberse a la temperatura; de acuerdo con Albaladejo (1999), indica que el índice de refracción va disminuyendo al ir aumentando la temperatura y que es proporcional a la densidad. Este parámetro varía con la longitud de onda y la temperatura de la luz refractada y se refiere a la longitud de onda correspondiente a la línea D de la luz de sodio a 589,3 nm, así como la suma importancia de calibrar adecuadamente el equipo para realizar las mediciones. Por lo que se puede decir de manera descriptiva que el mejor tratamiento fue sc20, con una menor variabilidad. Sin embargo, los resultados sugieren que el uso de la destilación en continuo favoreció en la destilación del aceite esencial de limón para aumentar el índice de refracción. Gamarra *et al.*, (2006), mencionan que es directa la relación entre el índice de refracción con el tiempo de destilación. Es decir, el índice de refracción aumenta al aumentar el tiempo de destilación, por lo que, se van modificando los compuestos en los primeros minutos y cambiando de coloración gradualmente el aceite esencial hacia más opaca, lo que explicaría la diferencia entre las distintas fracciones.

Los resultados que se obtuvieron en este estudio sobre el índice de refracción coinciden con lo obtenido en el trabajo de Becerra (2007) en donde estudió la destilación en continuo y la destilación por lote por arrastre de vapor del aceite esencial de limón mexicano con un índice de refracción de 1.4739 y 1.4777 respectivamente. Dado que este parámetro es único para cada aceite esencial, su determinación es muy importante, ya que su valor cambia cuando se diluye o se mezcla con otras sustancias, por lo que, es una medida de calidad y ayuda a controlar el parámetro de adulteración (Téllez, 2017).

### 6.4.3. Rotación óptica

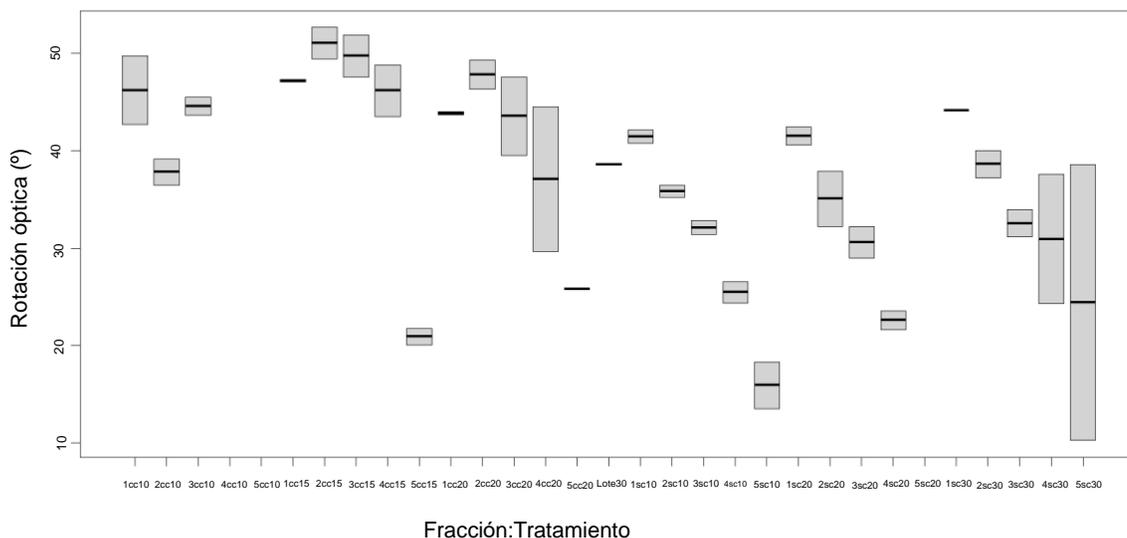
**Tabla 6.6** Rotación óptica del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna.

Rotación óptica (°)					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	+44.14±0.02	+38.65±1.98	+32.56±2.00	+30.95±9.40	+24.43±20.05
sc20	+41.51±1.33	+35.08±4.00	+30.63±2.30	+22.60±1.34	nc
sc10	+41.46±1.01	+35.84±0.90	+32.11±1.01	+25.49±1.54	+15.93±3.43
cc20	+43.84±0.23	+47.85±2.12	+32.56±2.00	+37.08±10.50	+25.80±0.00
cc15	+47.20±0.21	+51.06±2.32	+49.75±3.04	+46.18±3.78	+20.91±0.00
cc10	+46.23±4.99	+37.83±1.87	+32.56±2.00	+44.56±1.33	nc
lote (control)			+38.50±0.14		
NMX-F- 062-1974			+34°-+45°		

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5. nc: debajo del límite de cuantificación.

Los resultados obtenidos en la Tabla 6.6 muestran que el valor máximo encontrado corresponde a  $+41.51 \pm 1.33^\circ$  y el mínimo a  $+15.93 \pm 3.43^\circ$  para los tratamientos sin columna (sc30, sc20, sc10). En el caso de los tratamientos con columna (cc20, cc15, cc10) se tuvo que el valor máximo fue de  $+51.06 \pm 2.32^\circ$  y un mínimo de  $+20.91 \pm 0.00^\circ$ . Comparado con las especificaciones que marca la Norma NMX-F-062-1974 para el poder rotatorio del aceite esencial de limón que oscila entre  $+34^\circ$ - $+45^\circ$  a  $20^\circ\text{C}$ , parámetro que refleja la presencia de limoneno, componente principal en el aceite esencial de limón que tiene naturaleza dextrógira, mientras que el  $\beta$ -

pineno (segundo en importancia) es de naturaleza levógira; el resultado es un cambio en la proporción de los dos componentes. Por lo tanto, las principales razones de los cambios en este parámetro son los compuestos responsables de la rotación óptica. Los valores que se obtuvieron en este estudio con los diferentes tratamientos, en las fracciones 1, 2, 3 y 4 están por arriba del rango normal del aceite esencial de limón, así como también por arriba del valor obtenido en la destilación en lote con  $+38.50 \pm 0.14^\circ$ . Un estudio sobre el aceite esencial de limón realizado por Kesterson y colaboradores en 1971 obtuvo un máximo de  $+68.98^\circ$  y un mínimo de  $+57.82^\circ$ , valores cercanos a los encontrados en aceite esencial de limón italiano por Caccioni *et al.*, 1998, un máximo de  $+65^\circ$  y un mínimo de  $+57^\circ$ . Las diferencias en la rotación óptica se deben a diferentes sistemas de extracción, a la maduración del fruto, condiciones climáticas del área geográfica de procedencia y la variedad de la especie del fruto (*Citrus aurantifolia*).



**Figura 6.6** Rotación óptica del aceite esencial del jugo de limón mexicano obtenido de la destilación en continuo con columna y sin columna.

En la Figura 6.6 se muestran los valores de la rotación óptica de la destilación en continuo con columna y sin columna, en donde se observa que la fracción 1 fue la que presentó mayor rotación óptica, por lo tanto, es la fracción de aceite que al

parecer presenta en su composición una alta concentración de limoneno en los diferentes tratamientos. Se tiene que a mayor número de fracción menor es la rotación óptica, lo que se puede inferir que conforme se aumenta el número de fracción el compuesto principal (limoneno) se va agotando. En el mismo sentido se tiene que la variabilidad va aumentando al incrementar el número de fracción, esto puede ser en relación a la calibración del equipo, la temperatura del aceite esencial (20 °C) y el volumen requerido para realizar las mediciones, para que de esta manera favorezca en el momento de la toma de los datos. En el caso de los tratamientos con columna fueron los que resultaron con un mayor poder rotatorio en comparación con los tratamientos sin columna en cada una de las fracciones, siendo el tratamiento cc15 el que mantuvo mayores valores en la fracción 1 ( $+47.20 \pm 0.21^\circ$ ), fracción 2 ( $+51.06 \pm 2.32^\circ$ ), fracción 3 ( $+49.75 \pm 3.04^\circ$ ) y fracción 4 ( $+46.18 \pm 3.78^\circ$ ) en comparación con el resto de los tratamientos, lo que supone que los compuestos mayoritarios del aceite esencial de limón mexicano se mantiene en mayor proporción en cada una de las fracciones. La menor rotación óptica se presentó en el tratamiento sc10 ( $+15.93 \pm 3.43^\circ$ ) en su fracción 5.

De acuerdo con los valores obtenidos en el presente trabajo, concuerdan con lo reportado por Becerra (2007) y Manzano (2010) en donde obtuvieron una rotación óptica de  $+41.4^\circ$  y  $+46.7^\circ$  por el método de destilación en continuo y por lote del aceite esencial de limón mexicano. Las diferencias en los valores de rotación óptica entre las muestras se atribuyen a la presencia de los principales componentes del aceite esencial de limón (limoneno y  $\beta$ -pineno).

### **6.5. Composición química del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) obtenido de la destilación en continuo sin columna, con columna y destilación en lote.**

La identificación de los componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) y sus concentraciones relativas, se realizaron por el análisis por CG-EM y CG-FID. Se identificaron 89 compuestos volátiles que representaron el 98% de la composición porcentual del aceite. Los resultados obtenidos se presentan en el ANEXO II. Dichos resultados concuerdan con los obtenidos por Lawal & Oyedeji, 2009, Benites *et al.*, 2011 y Kahriman *et al.*, 2011, quienes reportaron que los AE de cítricos consisten principalmente en hidrocarburos alifáticos no oxigenados, como limoneno,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpinoleno, e hidrocarburos oxigenados, como el linalol y  $\alpha$ -terpineol.

La composición química del aceite esencial de *C. aurantifolia* fue similar a la de otras especies, como *C. limonia* y *C. reticulata*, ya que presentan los mismos constituyentes principales (Martins *et al.*, 2017). El limoneno es abundante en el jugo de limón de *C. aurantifolia* y es un componente importante del aceite esencial de *C. sinensis*, *C. latifolia* y *C. limonia* (Eldahshan & Halim, 2016; Estevam, 2017). Por lo tanto, cabe señalar que, el aceite esencial de *C. aurantifolia* que se obtuvo en este estudio es rico en D-limoneno,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpinoleno, linalol y  $\alpha$ -terpineol. Informes de aceites esenciales obtenidos de otras muestras de *C. aurantifolia* indica que en el aceite predominan los terpenos y que la composición química varía mucho según el origen de la planta. Hong *et al.* (2017), Tundis *et al.* (2012) y Spadaro *et al.* (2012) examinaron una muestra de aceite esencial de limón recolectada en Italia y encontraron limoneno,  $\beta$ -mirceno,  $\beta$ -pineno,  $\gamma$ -terpineno, citral y  $\beta$ -bisaboleno como compuestos principales.

Los aceites esenciales de limón han sido evaluados por su actividad antimicrobiana contra patógenos transmitidos por los alimentos. Por lo tanto, son de interés

investigativo porque pueden ser utilizados para desarrollar nuevas soluciones para productos lácteos, como derivados lácteos como el helado (Tomar & Akarca, 2019). Es por eso que se procedió a identificar algunos compuestos de interés (D-limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpinoleno, linalol,  $\gamma$ -terpineno y  $\alpha$ -terpineol) que han sido reportados que pueden cumplir un efecto antimicrobiano, así como analizar los datos obtenidos de los diferentes tratamientos de la destilación en continuo para determinar la variación del proceso y su efecto sobre los compuestos seleccionados en comparación con una muestra de aceite obtenida por destilación en lote (muestra control). En la Tabla 6.7 se muestran los resultados de la concentración de  $\alpha$ -pineno.

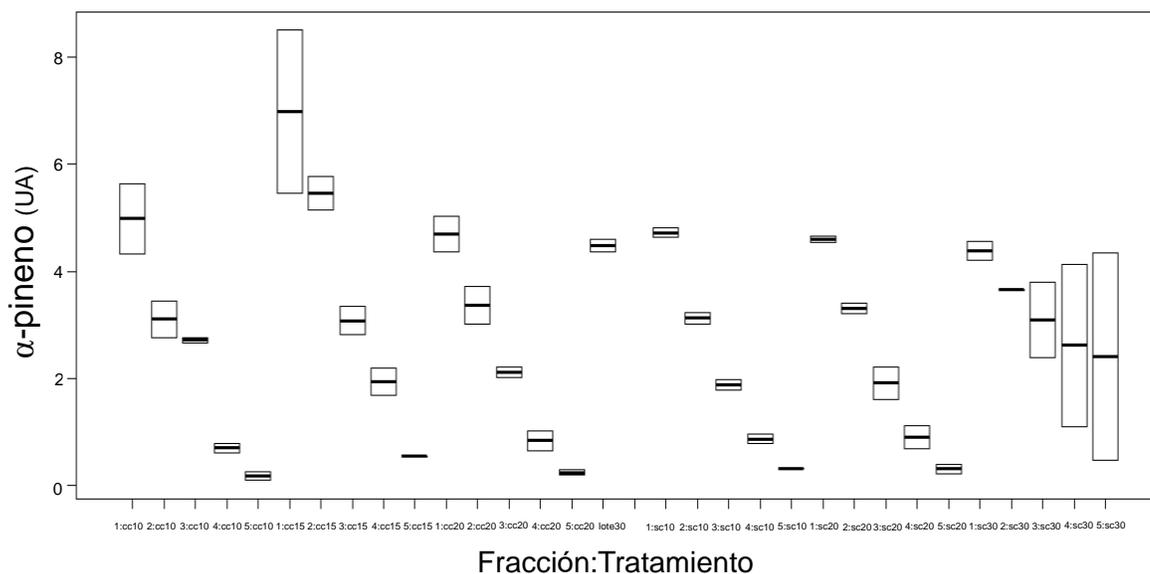
### 6.5.1. Concentración de $\alpha$ -pineno

**Tabla 6.7** Concentración de  $\alpha$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

$\alpha$ -pineno					
Fracciones del equipo de destilación en continuo (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	4.38±0.24	3.65±0.01	3.09±1.01	2.62±2.14	2.41±2.74
sc20	4.60±0.07	3.31±0.13	1.91±0.42	0.90±0.31	0.31±0.12
sc10	4.72±0.12	3.13±0.16	1.88±0.13	0.87±0.12	0.33±0.00
cc20	4.69±0.47	3.36±0.50	2.12±0.13	0.84±0.25	0.25±0.07
cc15	6.98±2.15	5.47±0.44	3.08±0.37	1.94±0.35	0.54±0.01
cc10	4.98±0.93	3.10±0.49	2.71±0.08	0.70±0.11	0.18±0.11
lote (control)	4.48±0.18				

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

De acuerdo con los datos obtenidos del aceite esencial extraído por destilación en continuo con vapor, se puede observar en la Tabla 6.7 que las tres primeras fracciones F1, F2 y F3, se encuentran prácticamente similares, lo que sugiere que estas fracciones tienen un perfil de composición química muy cercano en cuanto a la concentración de  $\alpha$ -pineno, sin embargo, la fracción 1 es la que presenta mayor concentración de  $\alpha$ -pineno en los diferentes tratamientos, similar a la muestra de aceite esencial obtenida de la destilación en lote (4.48 UA) . Las fracciones 4 y 5 presentaron un perfil químico completamente diferente en comparación con las otras fracciones (F1, F2 y F3) y fueron las que presentaron una concentración muy baja de  $\alpha$ -pineno. Cabe mencionar que en el tratamiento sc30 y cc15 fue donde se obtuvo una concentración mayor para las cinco fracciones, es decir, que se presentó una concentración relativa más alta de  $\alpha$ -pineno durante el proceso de destilación en las diferentes fracciones.



**Figura 6.7.** Concentración de  $\alpha$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.7 se puede observar que conforme se va aumentando de fracción, la concentración de  $\alpha$ -pineno va disminuyendo. También se puede apreciar que se

tiene una gran variabilidad en los tratamientos con columna (cc20, cc15, cc10) en las primeras tres fracciones F1, F2 y F3, mientras que en el tratamiento sin columna sc30 ocurre en la fracción 3, 4 y 5. Mencionar que la concentración va a variar por el origen de la materia prima, el método de destilación y la presión vapor en cada una de las cámaras del destilador, lo cual pudo afectar la transferencia de masa en las diferentes fracciones y por ende tener una variación de los compuestos en las diferentes corridas experimentales. Se tuvo que el tratamiento sc30 fue el que presentó una mayor variabilidad, debido a que al utilizar este tratamiento se dificultó estabilizar el proceso de destilación. En cuanto a la mayor recuperación de  $\alpha$ -pineno fue para el caso del tratamiento cc15.

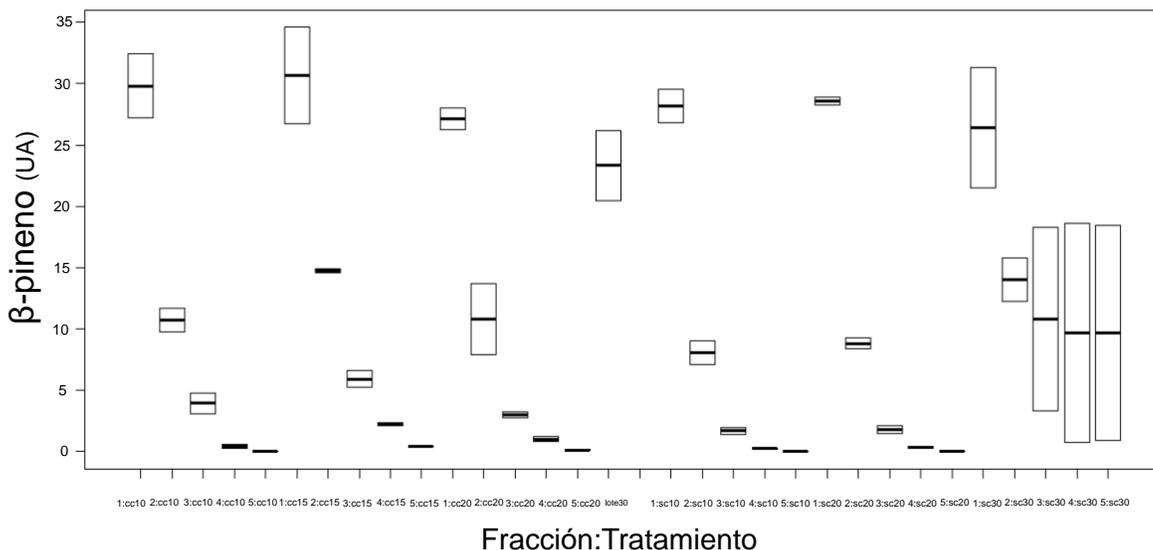
### 6.5.2. Concentración de $\beta$ -pineno

**Tabla 6.8** Concentración de  $\beta$ -pineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

$\beta$ -pineno (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	26.39±6.91	14.04±2.53	10.81±5.55	9.68±7.61	9.66±6.40
sc20	28.55±0.45	8.83±0.66	1.81±0.44	0.32±0.11	0.06±0.00
sc10	28.20±1.91	8.05±1.38	1.68±0.38	0.24±0.07	0.03±0.01
cc20	27.13±1.21	10.82±4.05	3.01±0.37	1.02±0.30	0.15±0.05
cc15	30.66±5.55	14.74±0.19	5.93±1.02	2.23±0.18	0.43±0.01
cc10	29.81±3.68	10.71±1.38	3.95±1.19	0.44±0.25	0.07±0.03
lote (control)	23.33±4.05				

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

En la Tabla 6.8 se muestra la concentración presente en cada una de las fracciones del aceite esencial obtenidas de la destilación en continuo, la concentración de  $\beta$ -pineno va disminuyendo de igual manera que el resto de los compuestos al ir aumentando de fracción. Se observó que las dos primeras fracciones F1 y F2 fueron las que presentaron una alta concentración, siendo la fracción 1 la que tuvo la mayor concentración relativa de  $\beta$ -pineno en los diferentes tratamientos y en comparación a la muestra obtenida de la destilación en lote (23.33 UA). Para las otras tres fracciones F3, F4 y F5 presentaron una concentración relativamente baja de  $\beta$ -pineno.



**Figura 6.8** Contenido de  $\beta$ -pineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.8 se puede observar que la fracción 1 fue la que presentó más concentración de  $\beta$ -pineno en comparación a las otras cuatro fracciones en los diferentes tratamientos. Para el caso de los tratamientos sin columna (sc20 y sc10) favorecieron en la separación de  $\beta$ -pineno, así como en el tratamiento sc30, sin embargo, se observó una amplia variabilidad en todas las fracciones para este tratamiento, esto se pudo deber al proceso de destilación en donde el equipo no se

mantuvo estable durante el proceso y la presión vapor no fue constante en cada una de las cámaras del destilador, lo que provocó una deficiencia en tener una mayor eficiencia en la separación y evitar fugas hacia los destilados al llevar a cabo las corridas experimentales. En los tratamientos con columna el que presentó una mayor recuperación de  $\beta$ -pineno fue cc15 en las cinco fracciones y se podría concluir que fue el mejor tratamiento.

### 6.5.3. Concentración de $\alpha$ -terpineno

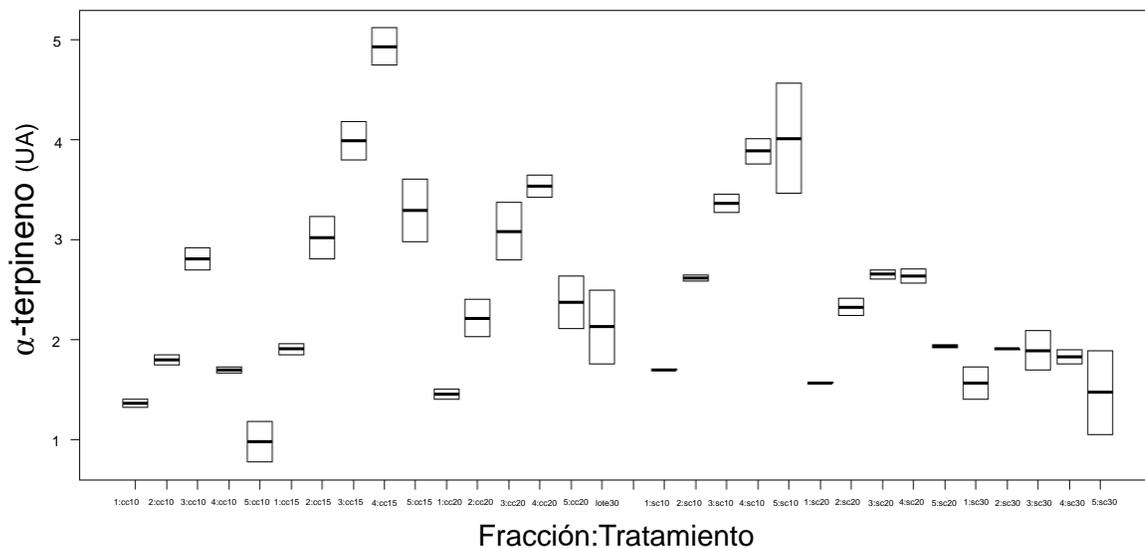
**Tabla 6.9** Concentración de  $\alpha$ -terpineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

Tratamiento (mL/min)	$\alpha$ -terpineno (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )				
	Fracciones del equipo de destilación en continuo				
	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	1.56±0.22	1.91±0.01	1.89±0.28	1.83±0.10	1.47±0.60
sc20	1.56±0.01	2.32±0.12	2.65±0.06	2.64±0.11	1.94±0.02
sc10	1.70±0.01	2.62±0.05	3.36±0.13	3.89±0.18	4.02±0.78
cc20	1.45±0.07	2.21±0.27	3.09±0.40	3.54±0.16	2.37±0.37
cc15	1.90±0.08	3.02±0.30	3.99±0.26	4.94±0.26	3.30±0.44
cc10	1.36±0.06	1.80±0.08	2.81±0.16	1.69±0.05	0.97±0.29
lote (control)			2.13±0.52		

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 6.9, se tiene que para el componente  $\alpha$ -terpineno en los tratamientos sin columna sc30 y sc20 en las fracciones 1 (1.56±0.22, 1.56±0.01 UA) y 5 (1.47±0.60, 1.94±0.02 UA) fueron las que

presentaron una menor concentración en comparación a la fracción 2 ( $1.91 \pm 0.01$ ,  $2.32 \pm 0.12$  UA), a la fracción 3 ( $1.89 \pm 0.28$ ,  $2.65 \pm 0.06$  UA) y a la fracción 4 ( $1.83 \pm 0.10$ ,  $2.64 \pm 0.11$  UA) que aumentaron su concentración y fue similar a la concentración que se obtuvo en la destilación en lote ( $2.13$  UA). En el tratamiento sc10 la concentración de  $\alpha$ -terpineno tendió a aumentar al incrementar la fracción, pudiendo deberse al flujo de vapor, ya que a bajos flujos aumenta la concentración. Para el caso de los tratamientos con columna (cc20, cc15 y cc10) se puede decir que la columna favoreció, ya que al utilizar distintos flujos de vapor la concentración de  $\alpha$ -terpineno fue incrementando durante el periodo de destilación; en el tratamiento cc15 se tuvo que conforme se va aumentando de fracción la concentración de  $\alpha$ -terpineno va aumentando en comparación de los tratamientos cc20 y cc10.



**Figura 6.9** Contenido de  $\alpha$ -terpineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

De acuerdo a los datos obtenidos se puede observar en la Figura 6.9 que la concentración de  $\alpha$ -terpineno aumentó en el caso de los tratamientos con columna (cc20, cc15 y cc10) durante el proceso de destilación. Algo similar ocurrió para el tratamiento sin columna sc10, mientras que para los tratamientos sc20 y sc30 se

mantuvo constante la concentración de  $\alpha$ -terpineno durante la destilación. Se tuvo una amplia variabilidad, la cual fue más evidente en la fracción 2, 3, 4 y 5 en los tratamientos cc15, cc20 y sc30, lo que podría suponer que durante las corridas experimentales el flujo de vapor no se mantuvo constante y por ello se afectó de manera directa la eficiencia de separación de  $\alpha$ -terpineno en las diferentes pruebas experimentales. Sin embargo, se podría decir que los mejores tratamientos sin columna y con columna que aumentaron la concentración de  $\alpha$ -terpineno fueron sc10 y cc15 en las diferentes fracciones.

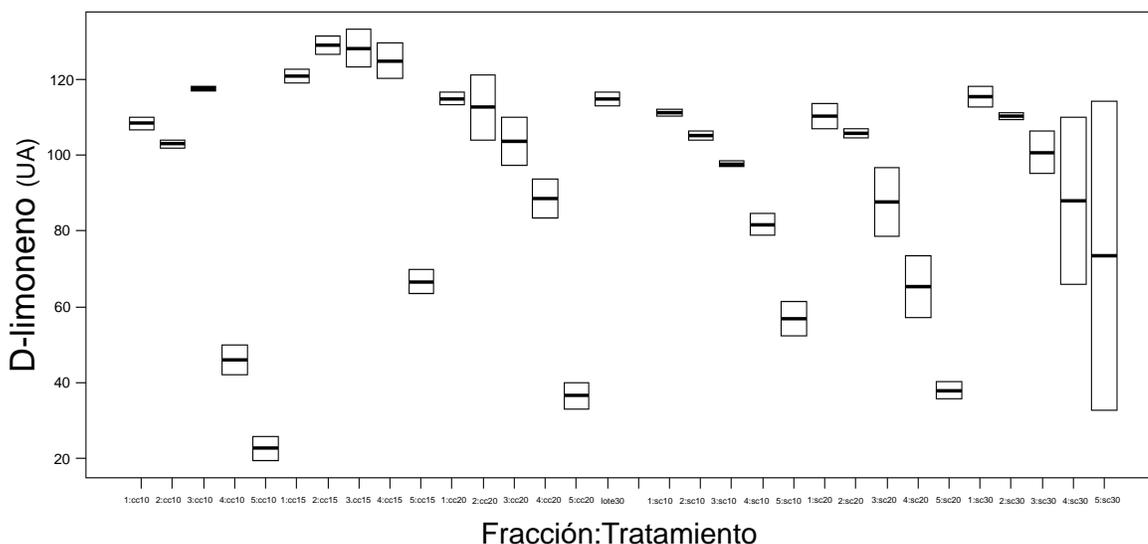
#### 6.5.4. Concentración de D-limoneno

**Tabla 6.10** Concentración de D-limoneno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

D-limoneno (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	115.44±3.92	110.25±1.11	100.65±4.81	87.90±6.28	73.48±6.01
sc20	110.16±4.72	105.70±1.77	87.63±6.66	65.33±5.45	38.03±3.02
sc10	111.24±1.33	105.09±1.58	97.68±1.15	81.71±4.07	56.84±6.42
cc20	114.88±2.49	112.54±1.04	103.66±5.03	88.44±7.19	36.60±4.87
cc15	120.90±2.54	128.94±3.44	128.08±7.05	124.86±6.60	66.67±4.44
cc10	108.40±2.35	102.86±1.46	117.44±0.70	46.08±5.60	22.72±4.38
lote (control)	114.70±2.66				

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

En el caso del D-limoneno se observa que conforme aumentó la fracción la unidad de área que es proporcional a la concentración fue disminuyendo (Tabla 6.10). Las fracciones 1, 2 y 3, están prácticamente agrupadas, lo que sugiere que estas fracciones tienen un perfil de concentración muy cercano. En contraste, de las fracciones 4 y 5. La fracción 5 presentó un perfil totalmente diferente en cuanto a la concentración de D-limoneno con respecto a las otras cuatro fracciones y fue la fracción que presentó una concentración relativa muy baja de D-limoneno en los diferentes tratamientos. Por otra parte, la concentración de D-limoneno que se obtuvo en la destilación en lote (114.70 UA) fue muy similar a la concentración obtenida en la fracción 1 en todos los tratamientos, presentando valores de 108.40 a 120.90 UA. Los resultados obtenidos permitieron confirmar que el principal componente del jugo de limón mexicano es el D-limoneno, debido a la volatilidad del compuesto ante el calor. Estos resultados concuerdan con otros autores que estudiaron dos especies de limón (*Swinglea glutinosa*) y una especie de naranja (*Citrus sinensis*) y reportan que el principal componente de los aceites esenciales de limón y naranja fue D-limoneno (Díaz, *et al.*, 2005); así como con el trabajo de Becerra (2007) y Manzano (2010) que estudiaron la variedad de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) y encontraron que el limoneno fue el componente mayoritario en el aceite esencia de ese fruto, coincidiendo con Contreras *et al.*, (1980), que demostraron en estudios de aceite esencial de *Citrus aurantifolia*, que los cítricos en general contienen limoneno como componente principal.



**Figura 6.10** Contenido de D-limoneno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.10 se puede observar que en los tratamientos sc30 y sc20 se presentó mayor variabilidad en comparación a los otros tratamientos. En el caso de la concentración de D-limoneno fue menor conforme aumentó la fracción; en los resultados obtenidos en la rotación óptica siguió un patrón similar lo que nos indica que la concentración de D-limoneno fue disminuyendo a lo largo del tiempo del proceso de destilación. Conforme a los datos obtenidos se puede concluir que el mejor tratamiento fue cc15 con una mayor concentración de D-limoneno en comparación a los diferentes tratamientos y al control.

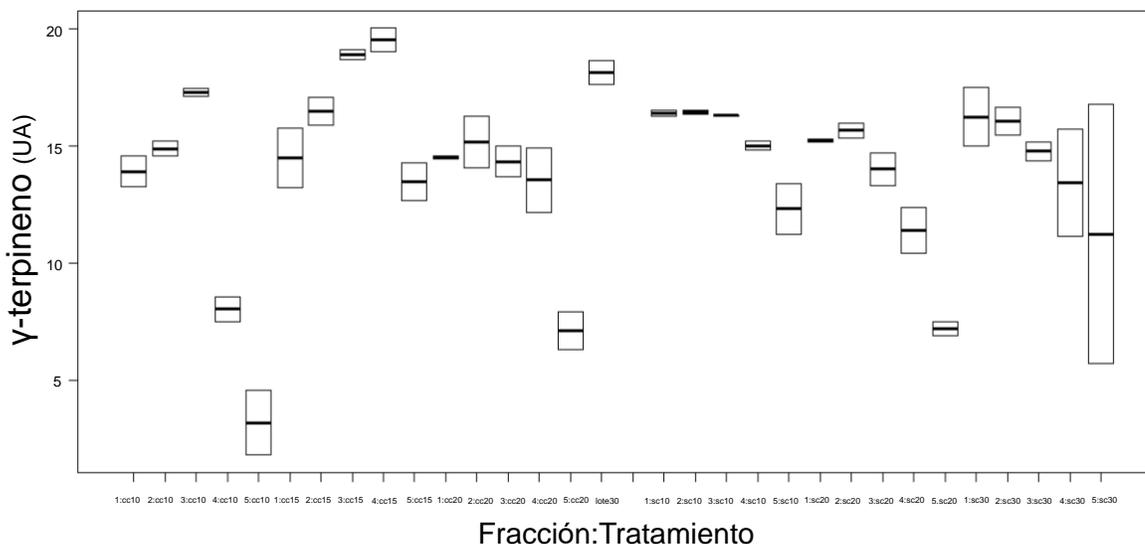
### 6.5.5. Concentración de $\gamma$ -terpineno

**Tabla 6.11** Concentración de  $\gamma$ -terpineno del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

$\gamma$ -terpineno (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	16.24±1.77	16.06±0.83	14.77±0.56	13.44±3.22	11.25±7.80
sc20	15.24±0.10	15.66±0.46	14.01±1.01	11.41±1.39	7.23±0.42
sc10	16.41±0.17	16.45±0.13	16.29±0.05	15.02±0.26	12.31±1.54
cc20	14.50±0.09	15.15±1.56	14.34±0.92	13.54±1.97	7.13±1.14
cc15	14.51±1.80	16.46±0.84	18.90±0.30	19.51±0.72	13.49±1.15
cc10	13.90±0.93	14.89±0.44	17.29±0.26	8.05±0.77	3.22±1.97
lote (control)	18.13±0.72				

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

La Tabla 6.11 se muestra que las concentraciones relativas de  $\gamma$ -terpineno en las fracciones 1, 2, 3 y 4 fueron las concentraciones más altas en comparación con la fracción 5 en donde se mostraron distribuciones de concentración muy diferentes en los distintos tratamientos; siendo la fracción 5 la que presentó la menor concentración de  $\gamma$ -terpineno. En cuanto a la concentración de  $\gamma$ -terpineno determinada por destilación en lote fue superior a la concentración determinada en las cinco fracciones de los tratamientos, excepto la fracción 3 (18.90 UA) y fracción 4 (19.51 UA) del tratamiento cc15 que resultó ser más alta la concentración de  $\gamma$ -terpineno en comparación al control (18.13±0.72 UA).



**Figura 6.11** Contenido de  $\gamma$ -terpineno en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.11 se muestra que en los tratamientos con columna se obtuvo un pequeño aumento en la concentración de  $\gamma$ -terpineno conforme fue aumentando la fracción, siendo la fracción 5 la que presentó la más baja concentración. En el caso de los tratamientos sin columna, la concentración de  $\gamma$ -terpineno se mantuvo constante en la fracción 1, 2, 3 y 4, pero para la fracción 5 se presentó el mismo patrón en donde fue que presentó la concentración más baja. Cabe mencionar que se tuvo una alta variabilidad en los tratamientos cc15, cc20, sc20 y sc30. Los mejores tratamientos para la recuperación de este compuesto fue sc10, ya que favoreció el mantener constante (con baja variabilidad) la concentración de  $\gamma$ -terpineno en cada una de las fracciones durante el proceso y cc15 que fue el tratamiento que presentó la mayor concentración en las cinco fracciones de  $\gamma$ -terpineno.

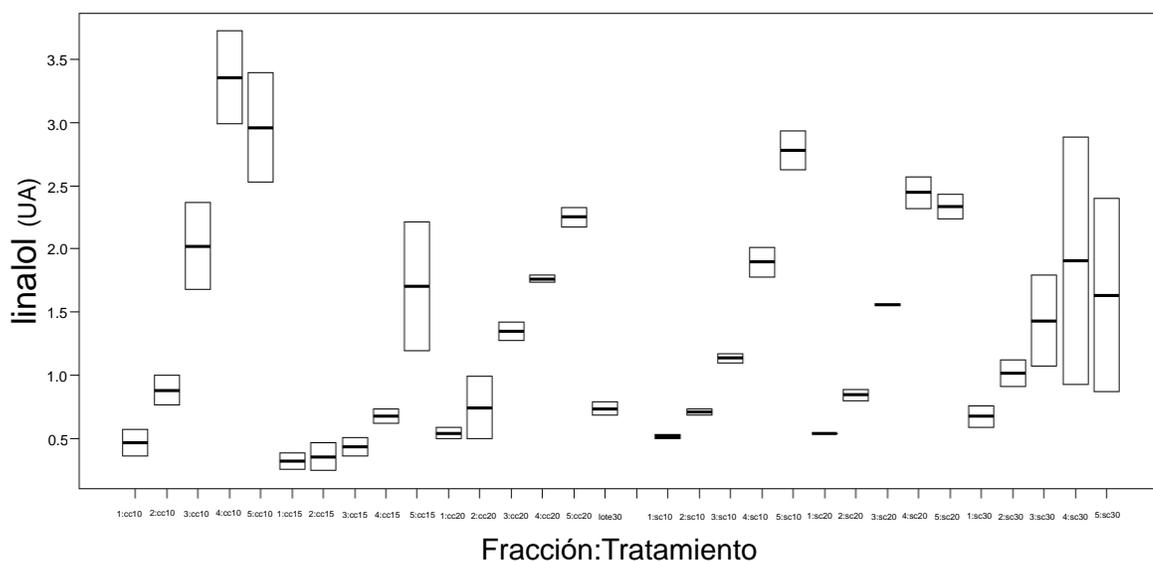
### 6.5.6. Concentración de linalol.

**Tabla 6.12** Concentración de linalol del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

linalol (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	0.67±0.12	1.02±0.15	1.43±0.51	1.90±1.38	1.63±1.08
sc20	0.54±0.00	0.84±0.07	1.56±0.01	2.45±0.18	2.34±0.14
sc10	0.51±0.02	0.71±0.03	1.13±0.05	1.89±0.17	2.78±0.22
cc20	0.54±0.06	0.74±0.35	1.34±0.10	1.76±0.04	2.25±0.11
cc15	0.32±0.09	0.35±0.16	0.43±0.10	0.68±0.08	1.70±0.72
cc10	0.47±0.15	0.88±0.17	2.02±0.49	3.36±0.52	2.96±0.62
lote (control)			0.73±0.08		

Los valores representan el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

Para el caso del linalol, se observó de acuerdo a la Tabla 6.12, que se tuvo una muy baja concentración en la fracción 1 y 2 en los diferentes tratamientos, sin embargo, fue similar a la concentración de linalol obtenida en la destilación en lote (0.73 UA). Caso contrario en la fracción 5, que, durante el tiempo del proceso de destilación, la concentración de linalol tendió a aumentar.



**Figura 6.12** Contenido de linalol en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.12 se muestra que conforme aumentó la fracción, la concentración de linalol tendió a aumentar en los diferentes tratamientos, siendo la fracción 1 la de menor concentración. En los tratamientos sin columna sc30 y sc20 la concentración de linalol fue mayor en la fracción 1 (0.67 y 0.54 UA), en la fracción 2 (1.02 y 0.84 UA), en la fracción 3 (1.43 y 1.56 UA) y en la fracción 4 (1.90 y 2.45 UA), en el caso de la fracción 5 fue mayor la concentración en el tratamiento sc20 y sc10 (2.34 y 2.78 UA) respectivamente. Para los tratamientos con columna los que presentaron una mayor concentración fueron el cc20 y cc10 en las cinco fracciones, sin embargo, en el tratamiento cc10 en la fracción 3 (2.02 UA), en la fracción 4 (3.36 UA) y en la fracción 5 (2.96 UA) fueron las de mayor concentración de linalol en comparación de los tratamientos cc20 y cc15. Cabe mencionar que se tuvo una alta variabilidad en el tratamiento sc30 y cc10 en las cinco fracciones. Se podría concluir que los mejores tratamientos fueron sc20 por su baja variabilidad y su concentración de linalol en la fracción 3, 4 y 5, así como el tratamiento cc10, que la concentración de linalol fue mucho mayor en las fracciones 3, 4 y 5 en comparación con lo determinado en el tratamiento control.

### 6.5.7. Concentración de $\alpha$ -terpineol

En la Tabla 6.13 se puede observar que la concentración de  $\alpha$ -terpineol en las fracciones 1, 2, 3 y 4 fue aumentando su concentración relativa, mientras que en la fracción 5 la concentración disminuyó a excepción del tratamiento sc10, cc20 y cc15 con una mayor concentración para esta fracción de  $\alpha$ -terpineol.

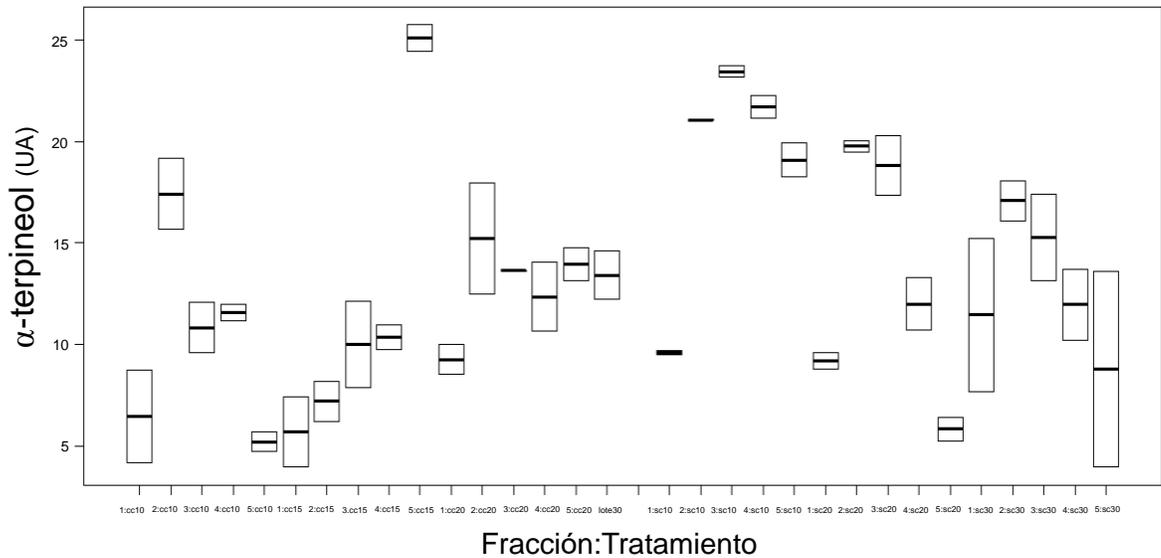
**Tabla 6.13** Concentración de  $\alpha$ -terpineol del aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo por arrastre con vapor.

$\alpha$ -terpineol (Unidades de Área x 10 <sup>7</sup> )					
Fracciones del equipo de destilación en continuo					
Tratamiento (mL/min)	F1	F2	F3	F4	F5
sc30	11.46±5.34	17.08±1.37	15.28±3.03	11.97±2.48	8.78±6.83
sc20	9.20±0.60	19.77±0.43	18.83±2.10	12.00±1.83	5.82±0.85
sc10	9.61±0.16	21.07±0.04	23.46±0.39	21.72±0.80	19.10±1.16
cc20	9.26±1.03	15.22±3.90	13.65±0.03	12.35±2.42	13.94±1.16
cc15	5.70±2.41	7.19±1.37	10.02±3.00	10.35±0.85	25.10±0.92
cc10	6.45±3.21	17.43±2.48	10.82±1.75	11.57±0.60	5.21±0.69
lote (control)	13.42±1.70				

Los valores representan el promedio de dos réplicas  $\pm$  desviación estándar. sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3, F4: fracción 4, F5: fracción 5.

Para el caso de la fracción F3 y F4 la concentración de  $\alpha$ -terpineol fue similar a la concentración que resultó en la destilación en lote (13.42±1.70 UA) para los diferentes tratamientos, sin embargo, en el tratamiento sc10 presentó una mayor concentración en estas fracciones (23.46±0.39 y 21.72±0.80 UA), respectivamente. En la fracción 2 se obtuvo una mayor concentración en el tratamiento sc20

( $19.77 \pm 0.43$ ) y sc10 ( $21.07 \pm 0.04$ ) en comparación al tratamiento control y a los diferentes tratamientos.



**Figura 6.13** Concentración de  $\alpha$ -terpineol en el aceite esencial de limón mexicano en las diferentes fracciones de los diferentes tratamientos por destilación con vapor.

En la Figura 6.13 se observa que en el tratamiento sc10 en las fracciones F2, F3, F4 y F5 se presentó la mayor concentración de  $\alpha$ -terpineol en comparación con los otros tratamientos. Cabe mencionar que en el tratamiento cc15, la fracción 5 presentó la mayor cantidad de  $\alpha$ -terpineol, esto debido a la estabilización del proceso en las diferentes pruebas experimentales. Se podría concluir que el mejor tratamiento en donde se mantuvo constante la concentración de  $\alpha$ -terpineol durante el tiempo de destilación fue sc10, siendo también el de mayor concentración.

Los aceites destilados por destilación en continuo y destilación por lote fueron bastante similares en su composición. Se encontró el mismo número de metabolitos secundarios volátiles en los aceites esenciales aislados por destilación en continuo o destilación por lote, siendo el D-limoneno el componente más abundante en el aceite esencial extraído del jugo de limón mexicano. Por lo tanto, la destilación en continuo por arrastre con vapor aceleró mucho el proceso de destilación, sin modificaciones importantes en la composición del aceite esencial.

## **6.6. Actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) contra *Listeria innocua*.**

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano destilado por el método de destilación en continuo con y sin columna (diluido con etanol al 70%) fue del tipo bactericida. La actividad se observó mediante la presencia de halos transparentes alrededor de cada disco utilizado en la prueba (ANEXO III).

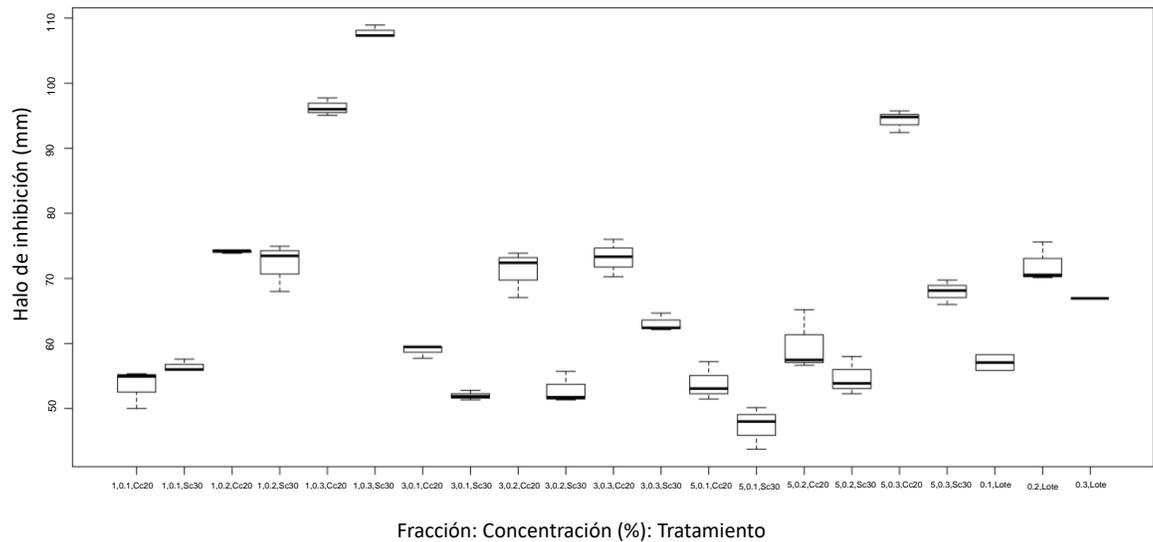
Se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la fracción 1, fracción 3 y fracción 5 del tratamiento sc30 y cc20 ya que resultaron ser diferentes entre sí en cuanto a sus características fisicoquímicas y a la concentración de sus diferentes metabolitos del aceite esencial. En la Tabla 6.14 se puede observar que existió una diferencia significativa en el tratamiento sc30 al utilizar una concentración de 0.3% con el aceite esencial de la fracción 1 ( $107.79 \pm 1.01$  mm) al presentar un mayor halo de inhibición contra *L. innocua* en comparación a la fracción 3 ( $63.10 \pm 1.41$  mm) y fracción 5 ( $67.97 \pm 1.92$  mm); en el tratamiento cc20 fue significativo al utilizar una concentración de 0.3% con el aceite esencial de la fracción 1 ( $96.26 \pm 1.36$  mm) y fracción 5 ( $94.30 \pm 1.73$  mm) comparado con el control ( $66.89 \pm 0.16$  mm).

**Tabla 6.14** Resultados de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) contra *L. innocua*.

Tratamiento (mL/min)	Concentración de aceite (%)	Halo de inhibición (mm)		
		F1	F3	F5
sc30	0.1	56.48±0.99 <sup>a</sup>	52.01±0.78	47.31±3.24
	0.2	72.15±3.69 <sup>a</sup>	52.94±2.47	54.76±2.95
	0.3	107.79±1.01	63.10±1.41 <sup>a</sup>	67.97±1.92 <sup>a</sup>
cc20	0.1	53.49±2.94 <sup>a</sup>	58.94±0.97 <sup>a</sup>	53.93±2.93 <sup>a</sup>
	0.2	74.13±0.20 <sup>a</sup>	71.15±3.59 <sup>a</sup>	59.79±4.70
	0.3	96.26±1.36	73.22±2.84	94.30±1.73
lote (control)	0.1		57.49±1.35 <sup>a</sup>	
	0.2		72.07±3.06 <sup>a</sup>	
	0.3		66.89±0.16 <sup>a</sup>	

Los valores presentados en la tabla son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Los valores no señalados con una letra minúscula en superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes de la media del nivel del control (prueba de Dunnett's  $\alpha = 0.05$ ). sc: sin columna. cc: con columna. F1: fracción 1, F3: fracción 3, F5: fracción 5.

Los halos de inhibición en las concentraciones 0.1, 0.2 y 0.3% fueron de menor diámetro en la fracción 3 y fracción 5 en los dos tratamientos utilizados en comparación a la fracción 1, que presentó el mayor halo de inhibición en las tres concentraciones de los tratamientos sc30 y cc20. Sin embargo, el aceite esencial del limón mexicano de la fracción 1 a una concentración de 0.3% con los dos tratamientos (sc30, cc20), resultó ser mejor que el aceite esencial de la destilación en lote.



**Figura 6.14** Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano.

En la Figura 6.14 se aprecia que la inhibición bacteriana del aceite esencial de limón mexicano en concentraciones de 0.3% fue mayor en relación al 0.1 y 0.2%. Los resultados muestran que a menor concentración de aceite esencial es menor la inhibición del microorganismo. Para el caso de la fracción 1 con el tratamiento sc30 fue el que presentó un mayor halo de inhibición en las tres concentraciones de aceite esencial (0.1, 0.2 y 0.3%) en comparación al tratamiento cc20. Caso diferente para la fracción 3 y 5 que presentaron un mayor halo inhibición con el aceite obtenido del tratamiento cc20 que con el aceite obtenido del tratamiento sc30 en las tres concentraciones evaluadas. Lo anterior pudo deberse a que estas fracciones presentaron mayor concentración de hidrocarburos oxigenados hallándose mayoritariamente el linalol y  $\alpha$ -terpineol. El aceite esencial de limón mexicano presentó una mayor actividad frente a *L. innocua* en la concentración 0.3% con el aceite esencial de la fracción 1 del tratamiento sc30.

Algunos autores han sugerido que los aceites esenciales que contienen una alta proporción de monoterpenos tienen importantes propiedades antimicrobianas

(Benites *et al.*, 2011; Lawal & Oyedeji, 2009; Sánchez *et al.*, 2009). Estos incluyen  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, linalol,  $\gamma$ -terpineol y  $\alpha$ -terpineol (Benites *et al.*, 2011; Sánchez *et al.*, 2009); algunos se encuentran en proporciones considerables en el aceite esencial de limón mexicano estudiado, cuyo principal componente fue el limoneno, al cual se le atribuye la actividad antimicrobiana de acuerdo a los resultados que se obtuvieron. Así como la acción de varios compuestos o de una posible sinergia potencial entre ellos. Según Jiang *et al.*, (2011), la interpretación de la actividad biológica de los aceites esenciales se dificulta por su complejidad de la composición química.

La actividad bactericida se relaciona principalmente con la sobrecarga de la membrana celular microbiana, lo que conduce a la pérdida de control e integridad (Maguna *et al.*, 2006; López, 2006; Griffin, 1979). Se reconoce que los aceites esenciales dependen de sus propiedades lipofílicas o hidrofílicas. Los terpenoides pueden servir como un ejemplo de sustancias solubles en lípidos que afectan la actividad de las enzimas catalíticas a nivel de la membrana, por ejemplo, ciertos componentes del aceite esencial pueden actuar como desacopladores que interfieren con el movimiento de protones a través de la membrana, que luego son fosforilados por ADP (Cano, 2007). Un estudio previo del autor Canabal (2017), realizó la evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales contra la *Burkholderia glumae* y logró una inhibición de más del 90% utilizando concentraciones de 80 ppm, 85 ppm y 90 ppm. Por otro lado, Guédez *et al.*, (2014) estudiaron el efecto fungicida de los AE presentando inhibición del 100% a concentraciones de AE de 2,5% y 5% en hongos en postcosecha. Según Guerra (2014), el AE de naranja extraído por hidrodestilación tuvo actividad antibacteriana contra bacterias Gram negativas con concentraciones inhibitorias mínimas de 10 % y 9 %.

El mecanismo de acción de los AE como agentes antimicrobianos se debe a la gran cantidad de compuestos que se encuentran en los AE que no tienen un mecanismo específico de su actividad antibacteriana. De hecho, no está claro qué componente

o mezclas de componentes tienen efectos antimicrobianos. Sin embargo, las propiedades lipofílicas están asociadas a la disolución de membranas biológicas, desarreglando las estructuras y aumentando la permeabilidad de la membrana (Sánchez *et al.*, 2009).

#### **6.7. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón mexicano contra *Listeria innocua* en una base de helado.**

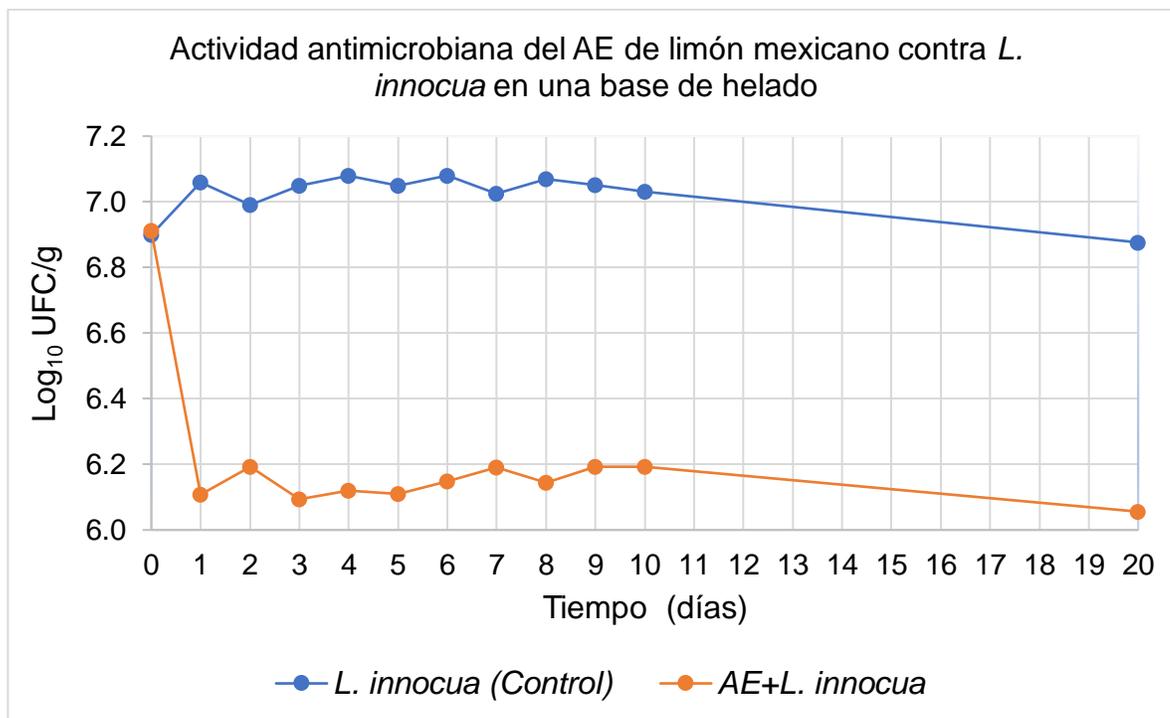
*L. monocytogenes*, un microorganismo psicotrópico, tiene la capacidad de crecer a temperatura de refrigeración, lo que permite la posibilidad de proliferación y causar una enfermedad a través de los alimentos (Schillinger *et al.*, 1991). En una planta de procesamiento de lácteos, *L. monocytogenes* puede experimentar condiciones de frío que conducen a la adaptación de este organismo que mejora su supervivencia en productos lácteos congelados como lo son en los helados. Los datos son muy limitados sobre el comportamiento de *L. monocytogenes* en helados durante el almacenamiento (Palumbo & Williams, 1991; Dean & Zottola, 1996; Gougouli *et al.*, 2008; Mastronicolis *et al.*, 2011). Se han evaluado alternativas para la preservación de alimentos, entre ellos el aceite esencial de limón, debido a que, algunas de sus moléculas han demostrado poseer actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas. En este estudio se evaluó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón mexicano en una base de helado donde se utilizó la cepa bacteriana *L. innocua* por cuestiones de manipulación y disposición. En laboratorio suele utilizarse esta cepa para fines prácticos ya que genómicamente son muy similares con *L. monocytogenes*. En la Tabla 6.15 se observa el recuento de células viables de la población inicial de *L. innocua* (6.9 log ufc/g) inoculadas en muestras de helados con y sin aceite.

**Tabla 6.15** El efecto antimicrobiano del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) contra la supervivencia de *L. innocua* en una base de helado.

Periodo de almacenamiento	AE+ <i>L. innocua</i> Log <sub>10</sub> UFC/g	<i>L. innocua</i> (Control) Log <sub>10</sub> UFC/g
Tiempo cero	6.9	6.9
Día 1	6.1	7.1
Día 2	6.2	7.0
Día 3	6.1	7.1
Día 4	6.1	7.0
Día 5	6.1	7.1
Día 6	6.1	7.0
Día 7	6.2	7.1
Día 8	6.1	7.0
Día 9	6.2	7.1
Día 10	6.2	7.0
Día 20	6.1	6.9

AE: Aceite esencial

Las muestras de helado se mantuvieron almacenadas en condiciones de congelación (-18 °C) y se observó que el conteo permaneció casi constante con una reducción muy lenta en el recuento bacteriano de 6.9 log ufc/g a 6.1 log ufc/g hasta el día 20 de almacenamiento al añadir el aceite esencial. En el tratamiento en el que no se añadió aceite esencial (tratamiento control), la población de *L. innocua* se mantuvo constante hasta el último día de almacenamiento (Tabla 6.15).



**Figura 6.15** Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano contra *L. innocua* en una base de helado.

En la Figura 6.15 se observa que no hubo efecto significativo en la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón contra *L. innocua* en la base de helado. Comparado con el control que solo fue la base de helado con la inoculación de la cepa, el recuento bacteriano se mantuvo constante para este caso durante el periodo de almacenamiento (20 días). En el caso de la base de helado inoculado con la cepa bacteriana y el aceite esencial solo hubo una disminución el número de células de 0.8 log ufc/g. Por lo anterior, se concluye que el aceite esencial de limón no mostró un efecto antimicrobiano importante contra *Listeria innocua* en helados. Esto pudo deberse a los ingredientes utilizados en la elaboración del helado ya que fue hecho a base de leche. Las propiedades específicas del alimento (grasas, proteínas, antioxidantes, el pH y sal) afectan las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales, así como las propiedades externas (temperatura, envasado al vacío, gases, composición atmosférica, características de los microorganismos)

afectan la resistencia bacteriana. Los principales factores que pueden afectar en la actividad antibacteriana de los AE en la leche son el pH, la actividad de agua ( $a_w$ ), el contenido de grasas y proteínas (Burt, 2004; Gutierrez y col., 2009). Lo cual puede observarse en los estudios de Raybaudi-Massilia y col. (2008), en donde encontraron que el aceite de clavo a 2.000 y 8.000 ppm fue bactericida contra *L. innocua* en jugo de pera y melón, respectivamente. Yuste & Fung (2002), estudiaron el aceite de hoja de canela en jugo de manzana pasteurizado y obtuvieron como resultado que a 1000 ppm se redujo la población de *L. monocytogenes* de  $10^4$  ufc/mL a niveles indetectables tras una hora de almacenamiento a 5 y 20 °C. Tomando en cuenta que el efecto del AE frente al patógeno va a depender de la matriz a estudiar.

En general, se necesitan concentraciones más altas de aceites esenciales en el alimento para lograr un efecto antimicrobiano, así como en el caldo de cultivo. Esta proporción está determinada por varios factores, incluido el contenido de nutrientes del alimento, que permite que los microorganismos reparen el daño más rápido que en caldo (Gill y col., 2002). La matriz y composición de los alimentos es otra razón por la cual los aceites esenciales son menos efectivos en los alimentos, ya que pueden ser una barrera para el acceso para que los microorganismos entren en contacto con los agentes antimicrobianos.

## VII. CONCLUSIONES

La destilación en continuo por arrastre con vapor tuvo como resultado una mejor recuperación de los aceites esenciales. Realizar la destilación de los aceites con bajos flujos de vapor favorece la estabilidad del proceso y menor variabilidad de las fracciones, aumentar el rendimiento y tener un ahorro sustancial de energía, así como favorece en sus características físicas y químicas.

El perfil cromatográfico mostró que el aceite esencial de limón mexicano obtenido por destilación en continuo y el aceite esencial obtenido por destilación por lote por arrastre con vapor no presentó un efecto adverso en la composición de los aceites esenciales extraídos. En su composición presentó principalmente monoterpenos y monoterpenos oxigenados, siendo el D-limoneno el componente principal en ambos métodos de destilación y se observó que los compuestos más volátiles fueron disminuyendo conforme se iba aumentando la fracción, mientras que, para los compuestos menos volátiles (compuestos oxigenados) su concentración fue aumentando al ir aumentando la fracción. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre esta tecnología para lograr un proceso lo suficientemente sinérgico para separar y concentrar adecuadamente los compuestos presentes en el aceite esencial.

Los resultados en la actividad antimicrobiana *in vitro* demostraron que el AE de limón mexicano presentó capacidad inhibitoria para la bacteria *L. innocua*. La evaluación del aceite esencial como antimicrobiano en una base de helado no tuvo un efecto en la inhibición de *L. innocua*, a una concentración del 0.3% de aceite en su formulación, lo que sugiere aumentar el porcentaje de aceite esencial o bien agregar una mezcla de aceites esenciales ya que algunos microorganismos pueden ser resistentes a la inhibición o eliminación por dosis convencionales de un solo aceite.

## VIII. REFERENCIAS

- AGROPRODUCTORES (2020). Limón persa o lima persa (*Citrus latifolia*). Zapopan, Jalisco, México.: AGROPRODUCTORES. Recuperado de <https://agroproductores.com/limon-persa>.
- Agudelo, Y., & Barrera Zapata, R. (2016). Simulation and model-validation of batch distillation processes in Aspen Batch Modeler: Limonene epoxide distillation. *Ingeniería y Desarrollo*, 34(1), 204-224.
- Albado Plaus, E., Saez Flores, G., & Grabiell Ataucusi, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Medica Herediana*, 12(1), 16-19.
- Albaladejo Meroño, Q. (1999). El Aceite esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales.
- Alfaro, M. M. D. (2010). *Destilación en continuo por arrastre de vapor para la obtención de aceite destilado de limón persa (Citrus latifolia)* [Tesis de Licenciatura]. Universidad de Guadalajara.
- Ammad, F., Moumen, O., Gasem, A., Othmane, S., Hisashi, K. N., Zebib, B., & Merah, O. (2018). The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil to control some fungal diseases of grapevine wood. *Comptes rendus biologiques*, 341(2), 97-101.
- Angelidis, A. S., Boutsiouki, P., & Papageorgiou, D. K. (2010). Loss of viability of *Listeria monocytogenes* in contaminated processed cheese during storage at 4, 12 and 22 C. *Food microbiology*, 27(6), 809-818.
- Apestequía, I. J. A. (2009). *Efecto diurético del zumo del fruto del limón (Citrus limon L.) en ratas de experimentación* (Tesis de Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). <https://hdl.handle.net/20.500.12672/228>.
- Avalos-García, A., & Pérez-Urrutia Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).
- Bae, G. S., Park, K. C., Choi, S. B., Jo, I. J., Choi, M. O., Hong, S. H., ... & Park, S. J. (2012). Protective effects of alpha-pinene in mice with cerulein-induced acute pancreatitis. *Life Sciences*, 91(17-18), 866-871.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Bandoni, A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. *Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata. La Plata. Argentina*.

- Becerra, L.P., (2007). *Características químicas de fracciones volátiles de aceite esencial destilado de limón mexicano* (Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara).
- Benites, J., Bravo, F., Rojas, M., Fuentes, R., Moiteiro, C., & Venancio, F. (2011). Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56(2), 712-714.
- Blanco, K. M., & Agudelo, A. J. 2007. *Estudio comparativo de los aceites esenciales de Lippia alba Mill N. E. Brown ex Britton & Wills cultivada con tres tipos de compost*. (Trabajo de Grado para optar el Título de Químico, Universidad Industrial de Santander, Colombia).
- Bolívar, G. (2022). Lifeder.com. Aldehídos: Estructuras, propiedades, usos y ejemplos. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/aldehidos/>
- Burbano, J., (1998). *Plantas Medicinales, Hierbas y Vitaminas*. Ed. 3a edición, Guayaquil-Educador., p.41.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Caccioni, D. R., Guizzardi, M., Biondi, D. M., Renda, A., & Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International journal of food microbiology*, 43(1-2), 73-79.
- Campos, C. S. E., (2019). *Fraccionamiento de aceite esencial de toronja mediante el uso de destilación en continuo y molecular*. (Trabajo para obtener el Título de maestro en ciencias en innovación biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.).
- Canabal González, A. F. (2017). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y de bacterias endofitas extraídas de *Lippia alba* y *Lippia origanoides* contra *Bulkholderia glumae*.
- Cano Pérez, C. A. (2007). Actividad antimicótica *in vitro* y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* "muña".
- Carson, C. F., & Riley, T. V. (2003). Non-antibiotic therapies for infectious diseases. *Communicable diseases intelligence quarterly report*, 27.
- Carta, V. E. (2009). *Optimización de la columna de destilación de relleno-bach (aislamiento térmico)* (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional del Altiplano). <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9113>

- Cassel, E., Vargas, R. M. F., Martinez, N., Lorenzo, D., & Dellacassa, E. (2009). Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Industrial crops and products*, 29(1), 171-176.
- Cava-Roda, R. M., Taboada-Rodríguez, A., Valverde-Franco, M. T., & Marín-Iniesta, F. (2010). Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in milk. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2120-2131.
- Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., Rankin, I. D., Sautter, R. L., ... & Spiegel, C. A. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. *Seattle: University of Washington*.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention, (2015). *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Blue Bell Creameries Products (Final Update)*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/index.html>.
- Ceballos, M. A. (2012). Análisis de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos de un aceite esencial de romero obtenido por medio de la destilación por arrastre de vapor (Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico).
- Cerutti, M., & Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *Invenio: Revista de investigación académica*, (12), 149-155.
- Chen, W., Liu, Y., Li, M., Mao, J., Zhang, L., Huang, R., ... & Ye, L. (2015). Anti-tumor effect of  $\alpha$ -pinene on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest. *Journal of pharmacological sciences*, 127(3), 332-338.
- Chirinos, D., Quispe, V. (2018). Estudio técnico para la producción de aceite esencial de limón (*Citrus aurantifolia*) utilizable en la industria de perfumería. (Tesis para optar por el grado de ingeniero, Universidad Nacional de Ingeniería, Perú).
- Clarke C. (2004). La ciencia del helado. La Real Sociedad de Química, Cambridge, Reino Unido.
- Contreras Villacura, E., Masson Salaué, L., Fuentes, R., & Abarca, M. (1980). Composición del aceite esencial de limón de pica (*Citrus aurantifolia*) por cromatografía gas líquido.
- Dean, J. P., & Zottola, E. A. (1996). Use of nisin in ice cream and effect on the survival of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 59(5), 476-480.
- Díaz, C., Paternina, G. S. A., Ortega, F., & Gaviria, J. (2005). Caracterización del aceite esencial en la corteza del limón Swinglea (*Swinglea glutinosa*) por CG/EM. *Temas Agrarios*, 10(1), 22-28.

- Dongmo, P. M. J., Tchoumboungang, F., Ndongson, B., Agwanande, W., Sandjon, B., Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2010). Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(4), 606-611.
- Dudai, N., Weinstein, Y., Krup, M., Rabinski, T., & Ofir, R. (2005). Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines. *Planta medica*, 71(05), 484-488.
- Eldahshan, O. A., & Halim, A. F. (2016). Comparison of the composition and antimicrobial activities of the essential oils of green branches and leaves of Egyptian navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Malesy). *Chemistry & biodiversity*, 13(6), 681-685.
- Espinal, C. F., Martínez, H. J., Peña, Y., (2008). *La cadena de cítricos en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia.
- Estevam, E. B. B. (2017). Composição química e atividades biológicas do óleo essencial das folhas de *Citrus limonia* e *Citrus latifolia* e dos frutos verdes e folhas de *Protium ovatum*.
- FDA, Food and Drug Administration, (2015). *Investigates Listeria Monocytogenes in Ice Cream Products from Blue Bell Creameries*. Recuperado de: <http://wayback.archive-it.org/7993/20171114154904/https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm438104.htm>.
- Fitriady, M. A., Sulaswaty, A., Agustian, E., Salahuddin, & Aditama, D. P. F. (2017, January). Steam distillation extraction of ginger essential oil: Study of the effect of steam flow rate and time process. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1803, No. 1, p. 020032). AIP Publishing LLC.
- Flamini, G., Tebano, M., & Cioni, P. L. (2007). Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon*. *Analytica Chimica Acta*, 589(1), 120-124.
- Gálvez, A., López, R. L., Pulido, R. P., & Burgos, M. J. G. (2014). Natural antimicrobials for food biopreservation. In *Food biopreservation* (pp. 3-14). Springer, New York, NY.
- Gamarra, F. M. C., Sakanaka, L. S., Tambourgi, E. B., & Cabral, F. A. (2006). Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23, 147-151.
- Geankoplis, C. J. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias*, 3a Edición. Editorial CECSA, 436-437.

- Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., & Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International journal of food microbiology*, 73(1), 83-92.
- Goff, H. D., & Hartel, R. W. (2013). *Ice cream*. Springer Science & Business Media.
- Gómez, H. J. R., (2009). *Caracterización fisicoquímica de fracciones volátiles de aceite esencial de limón persa (Citrus latifolia) destilado en continuo por arrastre de vapor*. Universidad de Guadalajara.
- Gougouli, M., Angelidis, A. S., & Koutsoumanis, K. (2008). A study on the kinetic behavior of *Listeria monocytogenes* in ice cream stored under static and dynamic chilling and freezing conditions. *Journal of dairy science*, 91(2), 523-530.
- Graham Solomons, T. (1988). *Química Orgánica*. Mexico. LIMUSA S.A.
- Granados, C., Yáñez, Y., Santafé, G. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 12-23.
- Griffin, S. G. (1979). Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to their molecular structure. *Physic Bulletin* 30: 262.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Avendaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivar, R., & Sánchez, L. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34(2), 81-87.
- Guenther E. (1972). Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *Acanthoscelides Obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of chemical Ecology*, 19(6), 1233-1244.
- Guenther, E., Althausen A.J., Langenau E. E., & Urdang G. (1985). *The constituents of essential oils*. Ed. Rbert W. Krieger Publishing Company. Malabar,Florida. The Essential Oils Volume II.
- Guerra, L., Soto, L., Medina, Z., Ojeda, G., & Peña, J. (2014). Actividad antibacteriana del aceite esencial de cortezas de naranja (*Citrus sinensis*) var. Valencia frente a microorganismos gram positivos y gram negativos. *Rev. Fac. Agron.(LUZ).[Internet]*, 31, 215-232.
- Güler, Z., & Gürsoy-Balçı, A. C. (2011). Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 127(3), 1065-1071.

- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food microbiology*, 26(2), 142-150.
- Hernández Sánchez, P. (2011). Encapsulación de Aceites Esenciales de Clavo para su Aplicación en la Industria Alimentaria.
- Hitchins, A. D., & Jinneman, K. (2011). Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Bacteriological Analytical Manual (BAM).
- Hober, N. (2011). slidedhare. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/hober184/limoneno>
- Hong, J. H., Khan, N., Jamila, N., Hong, Y. S., Nho, E. Y., Choi, J. Y., ... & Kim, K. S. (2017). Determination of Volatile Flavour Profiles of *Citrus* spp. Fruits by SDE-GC-MS and Enantiomeric Composition of Chiral Compounds by MDGC-MS. *Phytochemical Analysis*, 28(5), 392-403.
- Horna, C. (2015). Estudio comparativo y evaluación del rendimiento de dos tecnologías de extracción de aceites esenciales de naranja, mandarina y tangelo. (Tesis para optar por el grado de Ingeniero). ESAN, Perú. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2044/T17635%20%20ORTIZ%20CAZARES%2C%20CARLOS%20%20MEMORIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Huerta, G. J. R. (2009). *Caracterización Fisicoquímica de fracciones volátiles de aceite esencial de limón persa (Citrus Latifolia Tanaka) destilado en continuo por arrastre de vapor* (Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara).
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Jiang, Y.; Wua, N.; Fua, Y-J.; Wang, M.; Luo, M.; Zhao, Ch-J.; Zu, Y-G.; Liu, X-L. (2011). Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56(2), 712-714.
- Kahrman, N., Tosun, G., Terzioglu, S., Karaoglu, S. A., & Yayli, N. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the flower, leaf, and stem of *Senecio pandurifolius*. *Records of Natural Products*, 5(2), 82.
- Kesterson, J. W., Hendrickson, R. y Braddock, R. J. (1971). Florida Citrus Oil. Fla.Agric.Exp.Stn. Bull. 749.
- Kimbal, D.A. (2002). *Procesado de Cítricos*. Ed. Acriba S.A. Zaragoza, España: Procesado de Cítricos.

- Lawal, A.; Oyedeji, A. (2009). Chemical composition of the essential oils of the flowers, leaves and stems of two *Senecio polyanthemoides* Sch. Bip. samples from South Africa. *Molecules*, 14(6), 2077-2086.
- Lindner E., (1995). Toxicología de Alimentos. Ed- 2da edición.
- López, L. (2006). Tomillo: Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Offarm: farmacia y sociedad*, 25(1), 74-77.
- Luna Berbesí, H. (2007). Obtención, caracterización y estudio de la desterpenación del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*). Bogotá: Escuela de Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander.
- Maguna, F. P., Romero, A. M., Garro, O. A., & Okulik, N. B. (2006). Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Exactas n. 62.
- Mancilla, F. J. P., González, O., Prado, R., & Estarrón, M. (2007). Nuevo equipo y proceso de destilación fraccionada en continuo por arrastre con vapor de aceites esenciales de cítricos. *e-Gnosis*, 5.
- Manzano, A. M. D. (2010). *Destilación en continuo por arrastre de vapor para la obtención de aceite destilado de limón persa (Citrus latifolia)* (Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara).
- Martínez, J., Sulbarán de Ferrer, B., Ojeda de Rodríguez, G., Ferrer, A., & Nava, R. (2003). Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 20(4), 502-512.
- Martins, M. H., Fracarolli, L., Vieira, T. M., Dias, H. J., Cruz, M. G., Deus, C. C., ... & Crotti, A. E. (2017). Schistosomicidal effects of the essential oils of *Citrus limonia* and *Citrus reticulata* against *Schistosoma mansoni*. *Chemistry & Biodiversity*, 14(1), e1600194.
- Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.
- Mastronicolis, S. K., Diakogiannis, I., Berberi, A., Bisbiroulas, P., Soukoulis, C., & Tzia, C. (2011). Effect of cold adaptation on the survival of *Listeria monocytogenes* in ice-cream formulations during long-term frozen storage. *Annals of microbiology*, 61(4), 931-937.
- Matsuura, R., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2006). Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2309-2313.
- Matus, J., (2003). "Taller sobre el metabolismo secundario en plantas", Universidad Católica de Chile.

- Mehmet A., Ahmet M., Ali Y., Metin D., y Toshifumi H (2003). Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(12), 1725-1729.
- Mistretta, A. M. (2012). *Diseño de una columna de destilación para recuperación de una sustancia termosensible* (Doctoral dissertation, PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAISO).
- Modzelewska, A., Sur, S., Kumar, S. K., & Khan, S. R. (2005). Sesquiterpenes: natural products that decrease cancer growth. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5(5), 477-499.
- Mohammadhosseini, M., Sarker, S. D., & Akbarzadeh, A. (2017). Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 199, 257-315.
- Muriel-Galet, V., Cran, M. J., Bigger, S. W., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. *Journal of Food Engineering*, 149, 9-16.
- Njoku, VI., Evbuomwan, BO. (2014). Analysis and Comparative Study of Essential Oil Extracted from Nigerian Orange, Lemon and Lime Peels. *Greener Journal of Chemical Science and Technology* 1(1): 6-14.
- NMX-F-062-1974. NORMA MEXICANA. Aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle), centrifugado. Recuperado de: [www.economia.gob.mx/](http://www.economia.gob.mx/)
- NOM-243-SSA1-2010. NORMA OFICIAL MEXICANA. PRODUCTOS Y SERVICIOS. LECHE, FORMULA LACTEA, PRODUCTO LACTEO COMBINADO Y DERIVADOS LACTEOS. DISPOSICIONES Y ESPECIFICACIONES SANITARIAS. METODOS DE PRUEBA PREFACIO.
- Ortiz, C. C. (2009). *El cultivo del limón y su relevancia en el financiamiento por la Financiera Rural en el Valle de Apatzingán, Michoacán* (Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro").
- Ortiz, F. K. Y. (2018). *Caracterización Físico-Química del jugo de limón sutil conservado mediante congelación rápida por aire forzado y un análisis comparativo con el jugo de limón en fresco* (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Piura, Perú).
- Orús, A. (2020). Producción mundial de limones 2012-2019. Statista. Recuperado el 26 de abril del 2021 de <https://es.statista.com/estadisticas/529261/produccion-mundial-de-limones/>.

- Padilla, F. J., González, O., Prado, R., Gutiérrez, H., Estarrón, M., & Vega, H. A. (2007). Nuevo equipo de proceso de destilación fraccionada en continuo por arrastre con vapor de aceites esenciales del jugo de limón mexicano. *e-Gnosis*, (5), 1.
- Padilla, J. D., Vega, H., Alba, A., Rodríguez, E., (2011). Sistema multifuncional de destilación, evaporación y extracción de moléculas orgánicas derivadas de productos naturales. patente, folio de entrada: 1434 mx/a/2011/013248.
- Palumbo, S. A., & Williams, A. C. (1991). Resistance of *Listeria monocytogenes* to freezing in foods. *Food Microbiology*, 8(1), 63-68.
- Pardo, C. G., Monsalve, G. S., Ereira, A., Espinosa, Y., & Jaramillo, G. I. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Citrus reticulata* sobre *Fusobacterium nucleatum* asociada a enfermedad periodontal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 7-14.
- Perdones, Á., Escriche, I., Chiralt, A., & Vargas, M. (2016). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. *Food chemistry*, 197, 979-986.
- Peredo, H., Palou, E., & López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 3(1), 24-32.
- Pérez, N. M. (2013). Farmacognosia y Medicamentos Herbarios: Terpenos. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Farmacia. Recuperado de: <https://docplayer.es/66405908-Universidad-central-de-venezuela-facultad-de-farmacia-terpenos-farmacognosia-y-medicamentos-herbarios-prof-a-nerly-margarita-perez-ibanez.htm>
- Perry, P., (2001). “Manual de Ingeniero Químico”, sexta edición (tercera en español). Ed. McGraw-Hill.
- Pino, J. A., Acevedo, A., Rabelo, J., González, C., & Escandón, J. (1999). Chemical composition of distilled grapefruit oil. *Journal of Essential Oil Research*, 11(1), 75-76.
- Ponso, C. F. C., Juncos, N. S., & Olmedo, R. H. (2020). El rol de los aceites esenciales en los procesos fermentativos de lácteos: elaboración de yogur con aceite esencial de naranja. *Nexo agropecuario*, 8(2), 104-110.
- Quiroz, A. (2009). Utilización de residuos de cáscara de naranja para la preparación de un desengrasante doméstico e industrial. Tesis para optar por el grado de ingeniero. Quito, Ecuador, Universidad Internacional SEK.

- Raybaudi-Massilia, R. M., Rojas-Graü, M. A., Mosqueda-Melgar, J., & Martín-Belloso, O. (2008). Comparative study on essential oils incorporated into an alginate-based edible coating to assure the safety and quality of fresh-cut Fuji apples. *Journal of Food Protection*, 71(6), 1150-1161.
- Ricciardi, G., & Ricciardi, A. (2000). Efecto de las variaciones estacionales sobre la composición química del aceite esencial de plantas de “salvia morada” de Sáenz Peña (Chaco). *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, UNNE; Exactas*, n. 11.
- Rodríguez, M., Alcaraz, L., & Real, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Baja California, México.
- Rosas-Gallo, A., & López-Malo, A. (2011). Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*). *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(1), 41-50.
- Ruiz Alonzo, C. (2008). Química Orgánica. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de: <http://organica1.org/1311/1311pdf10.pdf>
- Sánchez Rodríguez, G. (2006). El Clúster hortofrutícola del Valle de Apatzingán, Michoacán. *Bases para un desarrollo competitivo y sustentable. Fundación Produce Michoacán*.
- Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T. M., Naranjo, E., & Iglesia, A. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de Piper auritum Kunth (caisimón de anís). *Revista de protección vegetal*, 24(1), 39-46.
- Schillinger, U., Kaya, M., & Lücke, F. K. (1991). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*. *Journal of Applied Bacteriology*, 70(6), 473-478.
- SAGARPA, SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. (2017-2030). *CÍTRICOS, LIMÓN, NARANJA Y TORONJA Mexicanos*. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/planeacion-agricola-nacional-2017-2030-126813>.
- Serio, C. C. I. (1952). *Composición química del aceite esencial de limón (Citrus médica) de Misiones* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2017). *Limón: casi 2.44 millones de toneladas en 2016*. <https://www.gob.mx/siap/articulos/limon-casi-2-44-millones-de-toneladas-en-2016>.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2018). *Atlas Agroalimentario México*. México.

[https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018).

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2019). Atlas Agroalimentario 2019. México.

[https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2019/Atlas-Agroalimentario-2019](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2019/Atlas-Agroalimentario-2019).

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2021). Escenario mensual de productos agroalimentarios 2021, *Limón*.

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/629684/Escenario\\_limon\\_mar21.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/629684/Escenario_limon_mar21.pdf).

Spadaro, F., Costa, R., Circosta, C., & Occhiuto, F. (2012). Volatile composition and biological activity of key lime *Citrus aurantifolia* essential oil. *Natural Product Communications*, 7(11), 1934578X1200701128.

Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative medicine review*, 12(3).

Svoboda, K. P., & Greenaway, R. I. (2003). Lemon scented plants. *International Journal of Aromatherapy*, 13(1), 23-32.

Téllez Monzon, L. A. (2017). Caracterización de los aceites esenciales de seis ecotipos de orégano (*Origanum vulgare* ssp.) procedentes del valle de Urubamba-Cusco; Perú.

Tirado, C. B., Stashenko, E. E., Combariza, M. Y., & Martinez, J. R. (1995). Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 697(1-2), 501-513.

Tomar, O., & Akarca, G. (2019). Effects of ice cream produced with Lemon, mandarin, and orange peel essential oils on some physicochemical, microbiological and sensorial properties. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(1), 62-70.

Troncoso, C., Becerra, J., Perez C., Hernandez, V., Martin, S. A., Olate, S. M., & Riosa, D. (2012). Induction of defensive responses in *Eucalyptus globulus* (Labill) plants, against *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell)(Hemiptera: Psyllidae). *American Journal of Plant Sciences*.

Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., & Krisch, J. (2011). Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. *International journal of food microbiology*, 144(3), 480-486.

- 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.
- Useche, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 0-0.
- Vega, H. P. (2001). *Sistema para la Extracción Continua de Aceites Esenciales. Solicitud de patente JL/a/2001/000027*. México.
- Venegas, M. J. (2002). Guía técnica cultivo de limón pèrsico. San Salvador: Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura, Recuperado de <http://repiica.iica.int/docs/B0217E/B0217E.PDF>.
- Wishart, D. S., Tzur, D., Knox, C., Eisner, R., Guo, A. C., & Young, N. (2007). HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res. Database*, (D521-6).
- Yang, Z., Wu, N., Zu, Y., & Fu, Y. (2011). Comparative anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of (-)-pinene: Effect on nucleocapsid (N) protein. *Molecules*, 16(2), 1044-1054.
- Yuste, J., & Fung, D. Y. C. (2002). Inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A 49594 in apple juice supplemented with cinnamon. *Journal of Food Protection*, 65(10), 1663-1666.
- Zekaria, D. (2006). Los aceites esenciales: una alternativa a los antimicrobianos. *Laboratorios Calier*, 1-6.



## **IX. ANEXOS**

### **9.1. ANEXO I**

#### **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL**

Norma francesa NF V 03-409 (1983) en concordancia técnica con la norma internacional ISO/DIS 6571.

##### **Definición**

Contenido de aceite esencial: Totalidad de sustancias arrastradas por el vapor de agua, en las condiciones específicas en la presente norma dada en mililitros por 100 g de producto anhidro.

##### **Principio**

Destilación del producto en suspensión acuosa, recuperación del destilado en tubo graduado que contiene una cantidad determinada en xileno para fijar el aceite esencial, separación por decantación de las fases orgánicas y acuosa, y lectura del volumen total de la fase orgánica. Después de la deducción del volumen de xileno, cálculo del contenido de aceite esencial.

##### **Reactivos**

Xileno

Solución de lavado, por ejemplo, detergente líquido o mezcla sulfocrómica.

##### **Equipo**

Balón de fondo redondo con capacidad de 500 o 1000ml, aparato de condensación, trampa de vapor, papel filtro de 11 cm de diámetro, pipeta de capacidad de 1 mL, fuente de calentamiento, perlas de ebullición, probeta graduada de 10 mL, balanza analítica.

## **Metodología**

### **Preparación del aparato**

Limpiar cuidadosamente el aparato de condensación, fijar el tapón de vidrio sobre el brazo lateral y la trampa de vapor sobre el tubo de seguridad, voltear el aparato, llenarlo con una solución de lavado y dejarlo en esta solución durante una noche. Enjuagar cuidadosamente el equipo con agua y dejarlo secar.

### **Toma de muestra**

Pesar con precisión un volumen de 400 mL (volumen del balón 1000 mL 2.5 h).

### **Determinación del volumen de Xileno**

Con una probeta graduada introducir en el balón la cantidad de agua específica en la norma y colocar las perlas de ebullición. Conectar el balón al aparato de condensación y llenar con agua el tubo graduado, el bulbo colector y el tubo oblicuo, por el brazo lateral. Agregar con una pipeta 1 ml de Xileno, por el brazo lateral. Llenar a la mitad la trampa de vapor, con agua y conectarla al equipo. Calentar el matraz balón y ajustar la velocidad de destilación a 2 o 3 mL por minuto, salvo indicación contraria. Destilar durante 30 minutos por lo menos y quitar el calentamiento. Dejar que el Xileno resbale por la válvula de 3 vías en el tubo graduado de manera que el nivel superior coincida con la graduación cero. Dejar enfriar y medir el volumen de xileno.

### **Determinación del contenido de aceite esencial**

Transferir la muestra en el matraz balón y conectarlo al equipo, calentar y ajustar el flujo a 2 o 3 mL por minuto a menos que exista otra indicación. Dejar que la separación continúe durante el tiempo especificado, apagar el calentamiento y dejar enfriar. Después de 10 minutos leer el volumen de la fase orgánica (mezcla aceite esencial/xileno) colectando en el tubo graduado. Restar del volumen final el volumen

de xileno determinado anteriormente, la diferencia representa la cantidad de aceite esencial presente en la muestra.

## 9.2. ANEXO II

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*), tratamiento sc30.

Tratamiento SC30								
NO.	T.R.	Componente	Composición					Lote
			F1	F2	F3	F4	F5	
1	4.77	Nonano	0.031	0.038	0.046	0.045	0.041	0.031
2	4.98	Bornileno	0.016	0.023	0.021	0.018	0.015	0.022
3	5.35	$\alpha$ -Tujeno	0.285	0.129	0.101	0.088	0.080	0.308
4	5.53	$\alpha$ -Pinoeno	4.379	3.651	3.093	2.619	2.408	4.479
5	5.81	$\alpha$ -Fencheno	0.138	0.210	0.192	0.177	0.146	0.188
6	5.85	Canfeno	0.577	0.694	0.646	0.543	0.466	0.673
7	6.34	Sabineno	0.273	0.048	0.020	0.006	0.002	0.440
8	6.49	$\beta$ -Pinoeno	26.393	14.042	10.809	9.679	9.661	23.327
9	6.63	$\beta$ -Mirceno	2.901	2.780	2.554	2.304	1.963	2.849
10	6.74	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.228	0.298	0.285	0.230	0.162	0.210
11	6.93	Octanal	0.177	0.112	0.082	0.078	0.078	0.136
12	7.07	$\alpha$ -Felandreno	0.426	0.585	0.582	0.532	0.415	0.601
13	7.22	$\delta$ -3-Careno	0.011	0.012	0.011	0.011	0.008	0.011
14	7.38	$\alpha$ -Terpineno	1.558	1.908	1.890	1.829	1.470	2.126
15	7.87	D-Limoneno	115.439	110.254	100.646	87.895	57.348	114.698
16	8.16	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.227	1.264	1.238	1.259	1.126	1.145
17	8.60	$\gamma$ -Terpineno	16.235	16.064	14.775	13.436	11.247	18.131
18	9.48	$\alpha$ -Terpinoleno	3.934	5.830	6.109	6.129	5.004	5.066
19	9.66	Undecano	0.039	0.055	0.072	0.096	0.108	0.034
20	9.81	Linalool	0.672	1.015	1.432	1.903	1.633	0.735
21	9.88	Nonanal	0.078	0.067	0.053	0.034	0.031	0.070
22	10.23	1,3,8-p-Mentatrieno	0.172	0.279	0.309	0.348	0.274	0.248
23	10.41	Fenchol	0.716	0.872	0.741	0.639	0.533	0.689
24	10.63	Mircenol	0.041	0.037	0.025	0.020	0.015	0.028
25	11.07	1-Terpineol	0.207	0.374	0.441	0.492	0.387	0.339
26	11.30	L-trans-Pinocarveol	0.046	0.041	0.031	0.026	0.020	0.026
27	11.42	$\beta$ -Terpineol	0.197	0.436	0.503	0.481	0.361	0.364
28	11.63	trans-Ocimenol	0.058	0.073	0.074	0.081	0.069	0.056
28	11.85	Isopulegol	0.007	0.016	0.020	0.029	0.024	0.016
30	11.95	Borneol	0.037	0.056	0.051	0.042	0.083	0.046
31	12.27	Isoborneol	1.484	2.156	1.898	1.488	1.075	1.540
32	12.66	Terpinen-4-ol	4.879	4.562	3.507	2.827	2.374	3.975
33	12.88	p-Acetiltoenuo	0.051	0.087	0.098	0.107	0.083	0.067
34	13.23	$\alpha$ -Terpineol	11.464	17.078	15.284	11.966	8.778	13.419

35	13.39	$\gamma$ -Terpineol	0.085	0.232	0.358	0.432	0.367	0.591
36	13.51	Decanal	0.790	0.828	0.745	0.724	0.583	0.031
37	14.50	Nerol	0.043	0.050	0.059	0.075	0.073	0.028
38	14.93	Neral	1.423	1.176	0.797	0.499	0.342	0.988
39	15.11	D-Carvona	0.016	0.019	0.017	0.020	0.014	0.017
40	15.49	Geraniol	0.116	0.207	0.294	0.392	0.399	0.127
41	16.09	Geranial	2.898	2.647	1.815	1.147	0.758	1.992
42	16.30	Perilaldehído	0.080	0.099	0.105	0.085	0.071	0.063
43	16.70	Bornil acetato	0.022	0.029	0.031	0.032	0.030	0.022
44	17.05	Tridecano	0.020	0.027	0.037	0.049	0.061	0.016
45	17.25	trans-Pinocarvil acetato	0.014	0.017	0.013	0.012	0.010	0.010
46	17.43	Undecanal	0.064	0.085	0.099	0.113	0.099	0.059
47	18.25	Mirtenil acetato	0.009	0.013	0.020	0.021	0.019	0.008
48	18.70	$\delta$ -Elemeno	0.414	0.374	0.350	0.377	0.401	0.414
49	19.28	p-Cimen-8-ol	0.218	0.448	0.512	0.560	0.419	0.376
50	19.72	Neril acetato	0.192	0.243	0.257	0.239	0.174	0.184
51	20.05	Cariofileno	0.014	0.017	0.032	0.054	0.055	0.010
52	20.33	Guaia-6,9-dieno	0.017	0.042	0.070	0.108	0.132	0.031
53	20.49	Geranil acetato	0.605	0.801	0.823	0.767	0.572	0.979
54	20.88	$\beta$ -Elemeno	0.194	0.216	0.253	0.325	0.365	0.215
55	21.46	Dodecanal	0.324	0.476	0.610	0.874	0.890	0.317
56	21.77	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.180	0.253	0.356	0.537	0.661	0.209
57	22.03	$\beta$ -Cariofileno	2.472	3.295	4.463	6.305	7.104	2.688
58	22.58	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	2.514	3.328	4.604	6.775	8.269	2.867
59	23.18	Isoledeno	0.047	0.103	0.176	0.300	0.384	0.081
60	23.33	$\alpha$ -Humuleno	0.576	0.798	1.107	1.644	1.941	0.658
61	23.54	trans- $\beta$ -Farneseno	0.138	0.194	0.267	0.395	0.482	0.159
62	23.79	$\beta$ -Santaleno	0.034	0.052	0.060	0.092	0.107	0.045
63	24.15	$\alpha$ -Amorfeno	0.155	0.392	0.727	1.346	1.815	0.307
64	24.40	Germacreno D	0.603	0.604	0.709	0.854	0.921	0.197
65	24.49	$\beta$ -Selineno	0.164	0.246	0.353	0.544	0.652	0.303
66	24.76	cis- $\beta$ -Ferneseno	0.253	0.644	1.153	2.060	2.669	0.516
67	24.94	$\alpha$ -Selineno	0.225	0.382	0.608	1.010	1.299	0.312
68	25.15	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.339	0.486	0.695	1.074	1.344	0.407
69	25.38	$\beta$ -Bisaboleno	5.956	6.761	11.917	16.880	22.797	7.191
70	25.69	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.069	0.123	0.193	0.336	0.457	0.109
71	25.99	$\delta$ -Elemeno2	0.105	0.170	0.242	0.403	0.520	0.154
72	26.54	$\beta$ -Maaleno	0.093	0.387	0.842	1.770	2.580	0.360
73	26.67	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.113	0.258	0.445	0.776	0.450	0.215
74	27.31	Germacreno B	1.048	1.217	1.346	1.459	1.235	0.944
75	27.86	Cariofilenil alcohol	0.013	0.070	0.161	0.339	0.469	0.059
76	28.33	(-)-Globulol	0.007	0.024	0.050	0.111	0.172	0.015

77	29.23	Tetradecanal	0.079	0.143	0.226	0.414	0.531	0.101
78	29.67	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.098	0.268	0.416	0.595	0.606	0.142
79	30.12	$\gamma$ -Eudesmol	0.065	0.189	0.402	0.813	1.124	0.146
80	30.51	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.037	0.095	0.161	0.282	0.344	0.021
81	30.70	$\delta$ -Cadinol	0.015	0.029	0.055	0.101	0.126	0.026
82	30.86	$\beta$ -Eudesmol	0.013	0.042	0.068	0.120	0.155	0.215
83	30.98	Neointermedeol	0.176	0.196	0.655	0.986	1.072	0.016
84	31.49	cis-Sesquisabineno hidrato	0.122	0.290	0.474	0.793	0.974	0.118
85	32.03	$\alpha$ -Bisabolol	0.144	0.395	0.702	1.250	1.705	0.265
86	32.45	Eudesm-7-(11) en-4-ol	0.053	0.191	0.345	0.539	0.544	0.097
87	33.96	E,E-Farnesal	0.016	0.043	0.070	0.113	0.139	0.023
88	36.40	Hexadecanal	0.053	0.108	0.173	0.324	0.449	0.082
89	43.44	Octadecanal	0.023	0.034	0.009	0.009	0.017	0.018

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*),  
tratamiento sc20.

NO.	R.T.	Componente	Tratamiento sc20					Lote
			F1	F2	F3	F4	F5	
1	4.76	Nonano	0.028	0.036	0.047	0.059	0.053	0.031
2	4.97	Bornileno	0.017	0.028	0.024	0.016	0.007	0.022
3	5.34	$\alpha$ -Tujeno	0.330	0.083	0.035	0.024	0.014	0.308
4	5.52	$\alpha$ -Pino	4.595	3.310	1.913	0.904	0.311	4.479
5	5.79	$\alpha$ -Fencheno	0.119	0.254	0.254	0.177	0.097	0.188
6	5.84	Canfeno	0.593	0.845	0.708	0.485	0.242	0.673
7	6.33	Sabineno	0.272	0.021	0.003	0.000	0.000	0.440
8	6.49	$\beta$ -Pino	28.551	8.828	1.805	0.317	0.061	23.327
9	6.62	$\beta$ -Mirceno	2.805	2.707	2.361	1.953	1.362	2.849
10	6.72	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.181	0.264	0.236	0.154	0.071	0.210
11	6.91	Octanal	0.177	0.093	0.037	0.017	0.007	0.136
12	7.05	$\alpha$ -Felandreno	0.417	0.688	0.704	0.574	0.353	0.601
13	7.21	$\delta$ -3-Careno	0.011	0.012	0.010	0.010	0.006	0.011
14	7.36	$\alpha$ -Terpineno	1.564	2.323	2.652	2.637	1.936	2.126
15	7.85	D-Limoneno	110.160	105.697	87.626	37.113	0.905	114.698
16	8.13	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.108	1.172	1.204	1.352	1.413	1.145
17	8.57	$\gamma$ -Terpineno	15.245	15.660	14.009	11.407	7.233	18.131
18	9.44	$\alpha$ - Terpinoleno	3.593	7.004	8.397	8.954	7.892	5.066
19	9.63	Undecano	0.035	0.047	0.074	0.133	0.181	0.034
20	9.78	Linalool	0.537	0.841	1.559	2.445	2.336	0.735
21	9.85	Nonanal	0.069	0.057	0.043	0.000	0.000	0.070
22	10.20	1,3,8-p-Mentatrieno	0.148	0.284	0.321	0.295	0.220	0.248
23	10.38	Fenchol	0.570	1.019	0.795	0.454	0.149	0.689
24	10.60	Mircenol	0.035	0.038	0.021	0.013	0.005	0.028
25	11.04	1-Terpineol	0.178	0.447	0.620	0.626	0.446	0.339
26	11.27	L-trans-Pinocarveol	0.042	0.038	0.014	0.014	0.005	0.026
27	11.39	$\beta$ --Terpineol	0.160	0.611	0.942	0.965	0.667	0.364
28	11.60	trans-Ocimenol	0.046	0.085	0.116	0.141	0.111	0.056
28	11.82	Isopulegol	0.007	0.021	0.035	0.048	0.042	0.016
30	11.92	Borneol	0.038	0.079	0.084	0.058	0.171	0.046
31	12.23	Isoborneol	1.087	2.201	2.017	1.163	0.487	1.540
32	12.62	Terpinen-4-ol	4.508	4.541	2.763	1.284	0.463	3.975
33	12.85	p-AcetiltoLueno	0.043	0.106	0.132	0.140	0.100	0.067
34	13.16	$\alpha$ -Terpineol	9.196	19.769	18.826	12.002	5.821	13.419
35	13.35	$\gamma$ -Terpineol	0.077	0.388	0.858	1.131	0.927	0.591
36	13.47	Decanal	0.702	0.805	0.712	0.616	0.451	0.031
37	14.46	Nerol	0.031	0.043	0.059	0.086	0.099	0.028
38	14.91	Neral	1.413	1.025	0.506	0.223	0.108	0.988

39	15.07	D-Carvona	0.017	0.020	0.024	0.022	0.017	0.017
40	15.46	Geraniol	0.077	0.160	0.305	0.501	0.601	0.127
41	16.06	Geranial	2.836	2.297	1.139	0.476	0.177	1.992
42	16.27	Perilaldehído	0.068	0.095	0.099	0.077	0.051	0.063
43	16.67	Bornil acetato	0.018	0.026	0.035	0.049	0.043	0.022
44	17.03	Tridecano	0.017	0.019	0.032	0.064	0.092	0.016
45	17.22	trans-Pinocarvil acetato	0.012	0.015	0.013	0.011	0.006	0.010
46	17.40	Undecanal	0.050	0.070	0.092	0.123	0.130	0.059
47	18.22	Mirtenil acetato	0.008	0.012	0.016	0.032	0.034	0.008
48	18.68	$\delta$ -Elemeno	0.406	0.253	0.217	0.294	0.412	0.414
49	19.24	p-Cimen-8-ol	0.180	0.546	0.671	0.667	0.384	0.376
50	19.69	Neril acetato	0.157	0.244	0.272	0.214	0.113	0.184
51	20.02	Cariofileno	0.009	0.014	0.027	0.061	0.103	0.010
52	20.29	Guaia-6,9-dieno	0.013	0.037	0.080	0.146	0.202	0.031
53	20.46	Geranil acetato	0.445	0.692	0.715	0.644	0.451	0.979
54	20.86	$\beta$ -Elemeno	0.181	0.158	0.201	0.333	0.476	0.215
55	21.43	Dodecanal	0.270	0.413	0.634	1.017	1.328	0.317
56	21.74	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.161	0.191	0.340	0.648	1.023	0.209
57	22.00	$\beta$ -Cariofileno	2.093	2.524	4.028	6.785	9.366	2.688
58	22.55	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	2.233	2.566	4.226	7.763	11.948	2.867
59	23.16	Isoledeno	0.035	0.080	0.184	0.379	0.627	0.081
60	23.31	$\alpha$ -Humuleno	0.488	0.612	1.029	1.873	2.805	0.658
61	23.52	trans- $\beta$ -Farneseno	0.122	0.148	0.249	0.462	0.713	0.159
62	23.78	$\beta$ -Santaleno	0.029	0.032	0.058	0.112	0.180	0.045
63	24.13	$\alpha$ -Amorfenol	0.109	0.317	0.781	1.709	2.843	0.307
64	24.38	Germacreno D	0.519	0.418	0.529	0.772	1.089	0.197
65	24.47	$\beta$ -Selineno	0.143	0.194	0.338	0.614	0.909	0.303
66	24.74	cis- $\beta$ -Farneseno	0.172	0.516	1.220	2.578	4.193	0.516
67	24.92	$\alpha$ -Selineno	0.177	0.288	0.588	1.210	1.950	0.312
68	25.13	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.291	0.370	0.658	1.287	2.062	0.407
69	25.36	$\beta$ -Bisaboleno	3.350	6.286	9.192	15.764	29.948	7.191
70	25.66	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.062	0.093	0.200	0.454	0.818	0.109
71	25.97	$\delta$ -Elemeno2	0.085	0.133	0.236	0.482	0.785	0.154
72	26.52	$\beta$ -Maaleno	0.058	0.311	0.999	2.504	4.497	0.360
73	26.65	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.094	0.203	0.481	1.057	0.710	0.215
74	27.29	Germacreno B	0.853	0.848	0.875	0.906	0.801	0.944
75	27.84	Cariofilenil alcohol	0.006	0.050	0.212	0.617	1.150	0.059
76	28.32	(-)-Globulol	0.007	0.019	0.058	0.176	0.376	0.015
77	29.22	Tetradecanal	0.061	0.114	0.229	0.489	0.807	0.101
78	29.65	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.044	0.184	0.372	0.641	0.834	0.142
79	30.03	$\gamma$ -Eudesmol	0.040	0.134	0.452	1.231	2.183	0.146
80	30.51	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.020	0.066	0.160	0.357	0.582	0.021
81	30.67	$\delta$ -Cadinol	0.004	0.018	0.057	0.136	0.206	0.026
82	30.84	$\beta$ -Eudesmol	0.011	0.030	0.064	0.156	0.257	0.215

---

83	30.96	Neointermedeol	0.081	0.268	0.563	1.022	1.418	0.016
84	31.47	cis-Sesquisabineno hidrato	0.064	0.203	0.464	0.976	1.503	0.118
85	32.01	$\alpha$ -Bisabolol	0.073	0.275	0.701	1.678	2.745	0.265
86	32.43	Eudesm-7-(11) en-4-ol	0.018	0.116	0.281	0.479	0.525	0.097
87	33.95	E, E-Farnesal	0.007	0.027	0.056	0.120	0.161	0.023
88	36.40	Hexadecanal	0.033	0.081	0.153	0.323	0.581	0.082
89	43.43	Octadecanal	0.016	0.036	0.019	0.007	0.014	0.018

---

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*),  
tratamiento sc10.

Tratamiento SC10								
NO.	R.T.	Componente	Composición					Lote
			F1	F2	F3	F4	F5	
1	4.76	Nonano	0.031	0.037	0.048	0.050	0.060	0.031
2	4.97	Bornileno	0.019	0.029	0.028	0.020	0.014	0.022
3	5.34	$\alpha$ -Tujeno	0.313	0.075	0.039	0.031	0.025	0.308
4	5.52	$\alpha$ -Pino	4.718	3.127	1.883	0.957	0.326	4.479
5	5.80	$\alpha$ -Fencheno	0.126	0.246	0.281	0.243	0.166	0.188
6	5.84	Canfeno	0.681	0.936	0.881	0.662	0.442	0.673
7	6.32	Sabineno	0.085	0.006	0.006	0.008	0.000	0.440
8	6.48	$\beta$ -Pino	28.195	8.048	1.679	0.290	0.032	23.327
9	6.61	$\beta$ -Mirceno	2.838	2.650	2.546	2.297	1.839	2.849
10	6.72	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.191	0.254	0.236	0.195	0.139	0.210
11	6.91	Octanal	0.184	0.107	0.049	0.023	0.012	0.136
12	7.05	$\alpha$ -Felandreno	0.456	0.709	0.782	0.703	0.514	0.601
13	7.20	$\delta$ -3-Careno	0.011	0.011	0.012	0.009	0.011	0.011
14	7.36	$\alpha$ -Terpineno	1.698	2.616	3.359	3.758	4.018	2.126
15	7.84	D-Limoneno	111.242	105.089	97.678	84.586	1.359	114.698
16	8.13	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.087	1.113	1.212	1.355	1.479	1.145
17	8.57	$\gamma$ -Terpineno	16.408	16.448	16.292	15.202	12.314	18.131
18	9.44	$\alpha$ -Terpinoleno	4.056	7.564	9.773	10.956	11.371	5.066
19	9.63	Undecano	0.039	0.044	0.066	0.089	0.139	0.034
20	9.77	Linalool	0.513	0.707	1.134	2.012	2.781	0.735
21	9.84	Nonanal	0.067	0.057	0.036	0.000	0.000	0.070
22	10.20	1,3,8-p-Mentatrieno	0.175	0.293	0.305	0.310	0.215	0.248
23	10.38	Fenchol	0.723	1.302	1.176	0.915	0.642	0.689
24	10.59	Mircenol	0.031	0.038	0.025	0.019	0.011	0.028
25	11.04	1-Terpineol	0.214	0.515	0.774	0.955	1.123	0.339
26	11.27	L-trans-Pinocarveol	0.037	0.036	0.016	0.008	0.008	0.026
27	11.38	$\beta$ --Terpineol	0.179	0.690	1.224	1.580	1.895	0.364
28	11.59	trans-Ocimenol	0.047	0.088	0.134	0.197	0.258	0.056
28	11.81	Isopulegol	0.007	0.021	0.035	0.052	0.067	0.016
30	11.91	Borneol	0.046	0.100	0.128	0.126	0.100	0.046
31	12.23	Isoborneol	1.168	2.290	2.363	2.086	1.459	1.540
32	12.62	Terpinen-4-ol	4.772	5.074	3.645	2.521	1.571	3.975
33	12.84	p-AcetiltoLueno	0.050	0.112	0.144	0.151	0.139	0.067
34	13.16	$\alpha$ -Terpineol	9.612	21.071	23.462	22.289	19.100	13.419
35	13.34	$\gamma$ -Terpineol	0.095	0.454	1.078	1.677	2.517	0.591
36	13.47	Decanal	0.713	0.813	0.748	0.736	0.566	0.031
37	14.45	Nerol	0.031	0.039	0.047	0.074	0.098	0.028
38	14.89	Neral	1.018	0.732	0.374	0.201	0.142	0.988

39	15.06	D-Carvona	0.015	0.023	0.025	0.026	0.027	0.017
40	15.45	Geraniol	0.067	0.127	0.200	0.360	0.495	0.127
41	16.04	Geranial	2.033	1.586	0.763	0.385	0.160	1.992
42	16.26	Perilaldehído	0.065	0.088	0.096	0.097	0.100	0.063
43	16.66	Bornil acetato	0.021	0.034	0.043	0.050	0.067	0.022
44	17.02	Tridecano	0.019	0.020	0.028	0.039	0.064	0.016
45	17.21	trans-Pinocarvil acetato	0.013	0.019	0.016	0.014	0.010	0.010
46	17.39	Undecanal	0.044	0.062	0.076	0.101	0.119	0.059
47	18.22	Mirtenil acetato	0.008	0.014	0.019	0.024	0.029	0.008
48	18.68	$\delta$ -Elemeno	0.380	0.227	0.169	0.198	0.276	0.414
49	19.23	p-Cimen-8-ol	0.213	0.597	0.683	0.676	0.423	0.376
50	19.69	Neril acetato	0.159	0.242	0.268	0.239	0.182	0.184
51	19.99	Cariofileno	0.004	0.011	0.022	0.041	0.068	0.010
52	20.28	Guaia-6,9-dieno	0.011	0.034	0.065	0.097	0.144	0.031
53	20.45	Geranil acetato	0.396	0.604	0.634	0.608	0.454	0.979
54	20.85	$\beta$ -Elemeno	0.173	0.141	0.152	0.216	0.316	0.215
55	21.43	Dodecanal	0.263	0.354	0.476	0.745	0.906	0.317
56	21.74	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.162	0.170	0.238	0.401	0.625	0.209
57	21.99	$\beta$ -Cariofileno	1.984	2.105	2.815	4.108	5.655	2.688
58	22.55	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	2.249	2.285	3.079	4.738	7.111	2.867
59	23.15	Isoledeno	0.028	0.065	0.146	0.272	0.357	0.081
60	23.31	$\alpha$ -Humuleno	0.462	0.518	0.723	1.143	1.683	0.658
61	23.51	trans- $\beta$ -Farneseno	0.108	0.129	0.176	0.282	0.425	0.159
62	23.78	$\beta$ -Santaleno	0.018	0.029	0.034	0.070	0.110	0.045
63	24.12	$\alpha$ -Amorfeno	0.097	0.245	0.502	0.960	1.536	0.307
64	24.37	Germacreno D	0.470	0.355	0.371	0.470	0.624	0.197
65	24.46	$\beta$ -Selineno	0.138	0.169	0.239	0.371	0.525	0.303
66	24.73	cis- $\beta$ -Farneseno	0.157	0.407	0.801	1.471	2.305	0.516
67	24.92	$\alpha$ -Selineno	0.161	0.238	0.389	0.684	1.075	0.312
68	25.13	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.279	0.323	0.459	0.770	1.186	0.407
69	25.38	$\beta$ -Bisaboleno	2.469	4.139	4.706	8.354	13.265	7.191
70	25.66	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.059	0.081	0.132	0.275	0.469	0.109
71	25.97	$\delta$ -Elemeno2	0.077	0.112	0.150	0.277	0.429	0.154
72	26.51	$\beta$ -Maaleno	0.056	0.235	0.614	1.388	2.393	0.360
73	26.65	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.093	0.170	0.314	0.622	1.002	0.215
74	27.28	Germacreno B	0.748	0.702	0.609	0.571	0.464	0.944
75	27.84	Cariofilenil alcohol	0.006	0.036	0.126	0.369	0.681	0.059
76	28.30	(-)-Globulol	0.007	0.015	0.036	0.084	0.189	0.015
77	29.21	Tetradecanal	0.057	0.092	0.147	0.283	0.404	0.101
78	29.63	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.038	0.128	0.225	0.370	0.467	0.142
79	30.02	$\gamma$ -Eudesmol	0.033	0.092	0.250	0.644	1.092	0.146
80	30.50	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.019	0.046	0.090	0.188	0.287	0.021
81	30.66	$\delta$ -Cadinol	0.003	0.013	0.032	0.070	0.106	0.026
82	30.83	$\beta$ -Eudesmol	0.008	0.018	0.035	0.079	0.122	0.215

---

83	30.96	Neointermedeol	0.065	0.183	0.307	0.507	0.656	0.016
84	31.46	cis-Sesquisabineno hidrato	0.049	0.154	0.270	0.514	0.716	0.118
85	32.00	$\alpha$ -Bisabolol	0.058	0.185	0.400	0.862	1.312	0.265
86	32.43	Eudesm-7-(11)en-4-ol	0.016	0.070	0.144	0.229	0.233	0.097
87	33.95	E,E-Farnesal	0.007	0.016	0.028	0.048	0.065	0.023
88	36.39	Hexadecanal	0.026	0.060	0.091	0.175	0.231	0.082
89	43.43	Octadecanal	0.014	0.016	0.007	0.027	0.039	0.018

---

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*),  
tratamiento cc20.

Tratamiento CC20								
NO.	R.T.	Componente	Composición					Lote
			F1	F2	F3	F4	F5	
1	4.75	Nonano	0.033	0.040	0.068	0.061	0.040	0.031
2	4.97	Bornileno	0.018	0.026	0.026	0.014	0.006	0.022
3	5.33	$\alpha$ -Tujeno	0.313	0.099	0.043	0.019	0.009	0.308
4	5.51	$\alpha$ -Pino	4.688	3.363	2.116	0.841	0.246	4.479
5	5.80	$\alpha$ -Fencheno	0.117	0.211	0.231	0.143	0.067	0.188
6	5.84	Canfeno	0.612	0.777	0.772	0.442	0.179	0.673
7	6.32	Sabineno	0.117	0.009	0.006	0.000	0.000	0.440
8	6.48	$\beta$ -Pino	27.136	10.819	3.014	1.025	0.150	23.327
9	6.61	$\beta$ -Mirceno	2.863	2.747	2.522	1.836	0.932	2.849
10	6.72	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.199	0.246	0.231	0.219	0.140	0.210
11	6.90	Octanal	0.173	0.106	0.047	0.040	0.016	0.136
12	7.04	$\alpha$ -Felandreno	0.411	0.657	0.725	0.654	0.349	0.601
13	7.20	$\delta$ -3-Careno	0.011	0.012	0.012	0.010	0.006	0.011
14	7.35	$\alpha$ -Terpineno	1.451	2.214	3.086	3.535	2.373	2.126
15	7.85	D-Limoneno	114.884	112.542	103.658	47.243	0.906	114.698
16	8.13	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.180	1.269	1.355	1.451	1.045	1.145
17	8.56	$\gamma$ -Terpineno	14.505	15.155	14.339	13.543	7.132	18.131
18	9.44	$\alpha$ -Terpinoleno	3.509	6.433	9.084	10.838	7.621	5.066
19	9.62	Undecano	0.035	0.054	0.099	0.128	0.134	0.034
20	9.77	Linalool	0.539	0.744	1.344	1.762	2.249	0.735
21	9.84	Nonanal	0.077	0.067	0.046	0.076	0.000	0.070
22	10.20	1,3,8-p-Mentatrieno	0.145	0.263	0.219	0.270	0.211	0.248
23	10.37	Fenchol	0.575	0.872	0.816	1.016	0.676	0.689
24	10.58	Mircenol	0.034	0.032	0.022	0.017	0.013	0.028
25	11.04	1-Terpineol	0.182	0.416	0.566	0.802	0.722	0.339
26	11.26	L-trans-Pinocarveol	0.039	0.029	0.019	0.015	0.011	0.026
27	11.38	$\beta$ -Terpineol	0.177	0.520	0.858	1.029	1.093	0.364
28	11.59	trans-Ocimenol	0.048	0.069	0.103	0.146	0.165	0.056
28	11.79	Isopulegol	0.007	0.017	0.029	0.042	0.047	0.016
30	11.91	Borneol	0.040	0.063	0.075	0.078	0.052	0.046
31	12.22	Isoborneol	1.139	1.773	1.457	1.381	1.466	1.540
32	12.61	Terpinen-4-ol	4.322	3.710	2.277	2.339	1.998	3.975
33	12.83	p-AcetiltoLueno	0.048	0.114	0.180	0.311	0.359	0.067
34	13.15	$\alpha$ -Terpineol	9.259	15.225	13.653	12.354	13.945	13.419
35	13.46	$\gamma$ -Terpineol	0.654	0.676	0.623	0.811	0.774	0.591
36	13.68	Decanal	0.021	0.037	0.042	0.054	0.066	0.031
37	14.45	Nerol	0.032	0.035	0.041	0.049	0.080	0.028
38	14.89	Neral	1.318	0.757	0.334	0.192	0.161	0.988

39	15.06	D-Carvona	0.020	0.021	0.029	0.040	0.040	0.017
40	15.44	Geraniol	0.085	0.139	0.215	0.256	0.457	0.127
41	16.04	Geranial	2.653	1.654	0.628	0.236	0.279	1.992
42	16.26	Perilaldehído	0.087	0.084	0.089	0.103	0.113	0.063
43	16.65	Bornil acetato	0.020	0.023	0.051	0.062	0.055	0.022
44	17.02	Tridecano	0.018	0.021	0.047	0.060	0.078	0.016
45	17.21	trans-Pinocarvil acetato	0.012	0.012	0.015	0.019	0.023	0.010
46	17.39	Undecanal	0.054	0.065	0.100	0.126	0.159	0.059
47	18.21	Mirtenil acetato	0.008	0.009	0.036	0.031	0.028	0.008
48	18.67	$\delta$ -Elemeno	0.360	0.231	0.207	0.264	0.378	0.414
49	19.22	p-Cimen-8-ol	0.162	0.350	0.268	0.210	0.253	0.376
50	19.68	Neril acetato	0.149	0.192	0.246	0.228	0.313	0.184
51	19.99	Cariofileno	0.009	0.012	0.034	0.046	0.077	0.010
52	20.30	Guaia-6,9-dieno	0.015	0.041	0.106	0.153	0.209	0.031
53	20.45	Geranil acetato	0.459	0.579	0.611	0.658	0.983	0.979
54	20.85	$\beta$ -Elemeno	0.166	0.149	0.201	0.277	0.442	0.215
55	21.42	Dodecanal	0.242	0.329	0.488	0.652	1.248	0.317
56	21.74	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.142	0.183	0.334	0.491	0.857	0.209
57	21.99	$\beta$ -Cariofileno	1.944	2.493	3.964	5.241	8.468	2.688
58	22.54	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	1.948	2.450	4.194	5.816	10.374	2.867
59	23.16	Isoledeno	0.038	0.080	0.212	0.326	0.508	0.081
60	23.30	$\alpha$ -Humuleno	0.441	0.573	0.960	1.321	2.429	0.658
61	23.51	trans- $\beta$ -Farneseno	0.107	0.133	0.231	0.327	0.609	0.159
62	23.75	$\beta$ -Santaleno	0.033	0.026	0.041	0.078	0.159	0.045
63	24.12	$\alpha$ -Amorfenol	0.117	0.326	0.792	1.232	2.459	0.307
64	24.37	Germacreno D	0.472	0.406	0.328	0.510	0.974	0.197
65	24.46	$\beta$ -Selineno	0.128	0.181	0.321	0.437	0.816	0.303
66	24.73	cis- $\beta$ -Farneseno	0.190	0.535	1.194	1.764	3.560	0.516
67	24.91	$\alpha$ -Selineno	0.175	0.291	0.583	0.859	1.716	0.312
68	25.12	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.256	0.337	0.598	0.849	1.731	0.407
69	25.34	$\beta$ -Bisaboleno	4.543	6.003	8.262	9.854	25.787	7.191
70	25.65	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.056	0.084	0.173	0.286	0.621	0.109
71	25.96	$\delta$ -Elemeno2	0.082	0.128	0.213	0.324	0.667	0.154
72	26.51	$\beta$ -Maaleno	0.069	0.322	0.958	1.643	3.596	0.360
73	26.65	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.087	0.185	0.437	0.698	2.603	0.215
74	27.27	Germacreno B	0.785	0.740	0.631	0.533	0.965	0.944
75	27.83	Cariofilenil alcohol	0.007	0.050	0.191	0.382	0.838	0.059
76	28.30	(-)-Globulol	0.008	0.019	0.077	0.152	0.330	0.015
77	29.21	Tetradecanal	0.053	0.090	0.178	0.275	0.643	0.101
78	29.63	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.055	0.178	0.304	0.373	0.728	0.142
79	30.02	$\gamma$ -Eudesmol	0.032	0.138	0.422	0.736	0.622	0.146
80	30.48	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.021	0.063	0.130	0.200	0.443	0.021
81	30.64	$\delta$ -Cadinol	0.004	0.019	0.049	0.081	0.164	0.026
82	30.83	$\beta$ -Eudesmol	0.012	0.025	0.056	0.091	0.196	0.215

---

83	30.95	Neointermedeol	0.090	0.274	0.449	0.541	1.065	0.016
84	31.46	cis-Sesquisabineno hidrato	0.063	0.181	0.364	0.509	1.045	0.118
85	32.00	$\alpha$ -Bisabolol	0.074	0.240	0.580	0.880	1.887	0.265
86	32.42	Eudesm-7-(11)en-4-ol	0.024	0.117	0.224	0.242	0.393	0.097
87	33.95	E,E-Farnesal	0.008	0.020	0.038	0.043	0.096	0.023
88	36.40	Hexadecanal	0.030	0.057	0.105	0.155	0.392	0.082
89	43.43	Octadecanal	0.008	0.017	0.009	0.020	0.064	0.018

---

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*),  
tratamiento cc15.

Tratamiento CC15									
NO.	R.T.	Componente	Composición						Lote
			F1	F2	F3	F4	F5		
1	4.75	Nonano	0.053	0.056	0.049	0.059	0.034	0.031	
2	4.97	Bornileno	0.039	0.050	0.036	0.028	0.010	0.022	
3	5.30	$\alpha$ -Tujeno	0.422	0.171	0.061	0.031	0.010	0.308	
4	5.50	$\alpha$ -Pirino	6.977	5.466	3.079	1.942	0.545	4.479	
5	5.78	$\alpha$ -Fencheno	0.238	0.377	0.315	0.279	0.105	0.188	
6	5.83	Canfeno	1.048	1.269	1.005	0.825	0.300	0.673	
7	6.32	Sabineno	0.195	0.022	0.008	0.009	0.006	0.440	
8	6.43	$\beta$ -Pirino	30.659	14.741	5.934	2.234	0.429	23.327	
9	6.60	$\beta$ -Mirreno	3.393	3.400	2.971	2.707	1.351	2.849	
10	6.71	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.147	0.176	0.216	0.217	0.220	0.210	
11	6.89	Octanal	0.146	0.136	0.116	0.080	0.036	0.136	
12	7.04	$\alpha$ -Felandreno	0.574	0.890	1.042	1.109	0.625	0.601	
13	7.19	$\delta$ -3-Careno	0.013	0.015	0.011	0.014	0.009	0.011	
14	7.34	$\alpha$ -Terpineno	1.905	3.022	3.991	4.936	3.295	2.126	
15	7.84	D-Limoneno	120.905	128.940	128.077	124.859	0.930	114.698	
16	8.12	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.109	1.254	1.412	1.563	1.203	1.145	
17	8.55	$\gamma$ -Terpineno	14.508	16.464	18.900	19.509	13.491	18.131	
18	9.47	$\alpha$ -Terpinoleno	4.024	6.919	10.031	12.727	11.189	5.066	
19	9.62	Undecano	0.036	0.046	0.056	0.077	0.096	0.034	
20	9.78	Linalool	0.320	0.354	0.433	0.679	1.701	0.735	
21	9.84	Nonanal	0.056	0.057	0.079	0.085	0.044	0.070	
22	10.20	1,3,8-p-Mentatrieno	0.107	0.186	0.286	0.285	0.337	0.248	
23	10.37	Fenchol	0.448	0.769	1.174	1.397	1.610	0.689	
24	10.59	Mircenol	0.023	0.019	0.010	0.007	0.017	0.028	
25	11.01	1-Terpineol	0.146	0.290	0.531	0.695	1.189	0.339	
26	11.25	L-trans-Pinocarveol	0.031	0.019	0.016	0.009	0.024	0.026	
27	11.39	$\beta$ -Terpineol	0.124	0.264	0.484	0.687	1.643	0.364	
28	11.55	trans-Ocimenol	0.028	0.031	0.050	0.074	0.188	0.056	
28	11.81	Isopulegol	0.006	0.011	0.017	0.025	0.056	0.016	
30	11.91	Borneol	0.027	0.042	0.065	0.076	0.117	0.046	
31	12.24	Isoborneol	0.596	0.801	1.199	1.223	2.672	1.540	
32	12.61	Terpinen-4-ol	2.593	2.160	2.497	2.256	3.905	3.975	
33	12.83	p-Acetilolueno	0.030	0.067	0.160	0.221	0.542	0.067	
34	13.23	$\alpha$ -Terpineol	5.698	7.190	10.016	10.350	25.103	13.419	
35	13.49	$\gamma$ -Terpineol	0.418	0.439	0.538	0.690	1.206	0.591	
36	13.69	Decanal	0.015	0.018	0.369	0.336	0.090	0.031	
37	14.44	Nerol	0.018	0.012	0.014	0.019	0.062	0.028	
38	14.87	Neral	0.791	0.326	0.184	0.137	0.171	0.988	

39	15.05	D-Carvona	0.017	0.016	0.016	0.021	0.043	0.017
40	15.43	Geraniol	0.052	0.048	0.050	0.075	0.230	0.127
41	16.01	Geranial	1.563	0.631	0.326	0.160	0.287	1.992
42	16.24	Perilaldehído	0.043	0.035	0.044	0.051	0.109	0.063
43	16.65	Bornil acetato	0.027	0.026	0.026	0.038	0.050	0.022
44	17.02	Tridecano	0.021	0.016	0.016	0.026	0.044	0.016
45	17.20	trans-Pinocarvil acetato	0.011	0.010	0.012	0.015	0.032	0.010
46	17.39	Undecanal	0.049	0.042	0.045	0.066	0.134	0.059
47	18.21	Mirtenil acetato	0.026	0.023	0.012	0.018	0.014	0.008
48	18.67	$\delta$ -Elemeno	0.158	0.094	0.113	0.123	0.279	0.414
49	19.21	p-Cimen-8-ol	0.158	0.261	0.315	0.277	0.258	0.376
50	19.68	Neril acetato	0.114	0.109	0.136	0.168	0.365	0.184
51	19.99	Cariofileno	0.022	0.028	0.010	0.016	0.042	0.010
52	20.30	Guaia-6,9-dieno	0.018	0.026	0.028	0.061	0.121	0.031
53	20.45	Geranil acetato	0.251	0.220	0.297	0.340	0.859	0.979
54	20.85	$\beta$ -Elemeno	0.086	0.063	0.085	0.108	0.281	0.215
55	21.43	Dodecanal	0.125	0.115	0.172	0.216	0.735	0.317
56	21.75	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.084	0.084	0.119	0.168	0.466	0.209
57	22.01	$\beta$ -Cariofileno	1.073	1.029	1.457	1.842	4.912	2.688
58	22.57	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	1.157	1.073	1.514	2.017	5.601	2.867
59	23.16	Isoledeno	0.015	0.038	0.056	0.091	0.245	0.081
60	23.31	$\alpha$ -Humuleno	0.237	0.212	0.305	0.415	1.208	0.658
61	23.51	trans- $\beta$ -Farneseno	0.057	0.055	0.074	0.106	0.300	0.159
62	23.75	$\beta$ -Santaleno	0.008	0.005	0.011	0.020	0.074	0.045
63	24.13	$\alpha$ -Amorfeno	0.051	0.100	0.181	0.301	0.958	0.307
64	24.31	Germacreno D	0.230	0.136	0.171	0.183	0.309	0.197
65	24.47	$\beta$ -Selineno	0.071	0.067	0.099	0.135	0.390	0.303
66	24.74	cis- $\beta$ -Farneseno	0.092	0.161	0.288	0.465	1.458	0.516
67	24.92	$\alpha$ -Selineno	0.082	0.088	0.139	0.218	0.682	0.312
68	25.13	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.136	0.112	0.164	0.244	0.746	0.407
69	25.37	$\beta$ -Bisaboleno	1.688	1.925	1.793	2.882	8.304	7.191
70	25.67	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.028	0.027	0.044	0.076	0.248	0.109
71	25.97	$\delta$ -Elemeno2	0.032	0.029	0.050	0.090	0.304	0.154
72	26.52	$\beta$ -Maaleno	0.027	0.080	0.168	0.350	1.249	0.360
73	26.67	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.043	0.052	0.085	0.159	0.536	0.215
74	27.27	Germacreno B	0.383	0.223	0.245	0.232	0.562	0.944
75	27.83	Cariofilenil alcohol	0.003	0.008	0.016	0.047	0.203	0.059
76	28.30	(-)-Globulol	0.012	0.011	0.007	0.016	0.052	0.015
77	29.20	Tetradecanal	0.028	0.018	0.026	0.046	0.176	0.101
78	29.61	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.025	0.030	0.041	0.065	0.226	0.142
79	30.09	$\gamma$ -Eudesmol	0.043	0.018	0.034	0.088	0.341	0.146
80	30.46	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.012	0.014	0.014	0.029	0.105	0.021
81	30.65	$\delta$ -Cadinol	0.007	0.002	0.004	0.011	0.041	0.026
82	30.78	$\beta$ -Eudesmol	0.005	0.003	0.005	0.012	0.044	0.215

83	30.92	Neointermedeol	0.029	0.037	0.047	0.080	0.266	0.016
84	31.45	cis-Sesquisabineno hidrato	0.040	0.028	0.033	0.073	0.237	0.118
85	31.99	$\alpha$ -Bisabolol	0.039	0.032	0.043	0.109	0.389	0.265
86	32.42	Eudesm-7-(11)en-4-ol	0.023	0.015	0.022	0.039	0.125	0.097
87	33.94	E,E-Farnesal	0.007	0.003	0.002	0.005	0.017	0.023
88	36.39	Hexadecanal	0.010	0.005	0.005	0.016	0.066	0.082
89	43.43	Octadecanal	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018

Principales componentes del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*),  
tratamiento cc10.

Tratamiento CC10								
NO.	R.T.	Componente	Composición					Lote
			F1	F2	F3	F4	F5	
1	4.75	Nonano	0.027	0.029	0.051	0.035	0.036	0.031
2	4.97	Bornileno	0.017	0.021	0.028	0.009	0.004	0.022
3	5.33	$\alpha$ -Tujeno	0.391	0.094	0.046	0.013	0.006	0.308
4	5.51	$\alpha$ -Pino	4.980	3.104	2.714	0.702	0.177	4.479
5	5.79	$\alpha$ -Fencheno	0.103	0.171	0.249	0.095	0.038	0.188
6	5.83	Canfeno	0.570	0.654	0.809	0.281	0.107	0.673
7	6.32	Sabineno	0.263	0.023	0.000	0.000	0.000	0.440
8	6.49	$\beta$ -Pino	29.810	10.709	3.945	0.443	0.028	23.327
9	6.61	$\beta$ -Mirceno	2.778	2.440	2.920	1.318	0.802	2.849
10	6.71	2,3-Dehidro-1,8-cineol	0.178	0.278	0.368	0.197	0.071	0.210
11	6.90	Octanal	0.138	0.081	0.046	0.012	0.049	0.136
12	7.04	$\alpha$ -Felandreno	0.390	0.581	0.876	0.422	0.174	0.601
13	7.20	$\delta$ -3-Careno	0.011	0.010	0.014	0.006	0.004	0.011
14	7.35	$\alpha$ -Terpineno	1.363	1.800	2.812	1.687	0.973	2.126
15	7.84	D-Limoneno	108.397	102.859	117.442	46.076	22.722	114.698
16	8.12	cis- $\beta$ -Ocimeno	1.062	1.141	1.565	1.121	1.071	1.145
17	8.55	$\gamma$ -Terpineno	13.902	14.887	17.285	8.045	3.220	18.131
18	9.43	$\alpha$ -Terpinoleno	2.801	5.449	9.154	6.207	4.546	5.066
19	9.62	Undecano	0.026	0.039	0.084	0.104	0.165	0.034
20	9.76	Linalool	0.466	0.881	2.021	3.358	2.960	0.735
21	9.83	Nonanal	0.065	0.063	0.026	0.000	0.000	0.070
22	10.19	1,3,8-p-Mentatrieno	0.125	0.288	0.465	0.371	0.163	0.248
23	10.36	Fenchol	0.403	0.822	0.720	0.374	0.179	0.689
24	10.56	Mircenol	0.026	0.034	0.021	0.011	0.012	0.028
25	11.03	1-Terpineol	0.143	0.400	0.667	0.635	0.364	0.339
26	11.25	L-trans-Pinocarveol	0.033	0.035	0.020	0.011	0.006	0.026
27	11.37	$\beta$ -Terpineol	0.106	0.455	0.596	0.757	0.608	0.364
28	11.58	trans-Ocimenol	0.032	0.069	0.088	0.133	0.113	0.056
28	11.79	Isopulegol	0.006	0.020	0.040	0.056	0.047	0.016
30	11.90	Borneol	0.028	0.058	0.055	0.211	0.168	0.046
31	12.20	Isoborneol	0.819	2.230	1.366	1.314	0.457	1.540
32	12.58	Terpinen-4-ol	3.324	4.533	2.529	1.512	0.484	3.975
33	12.82	p-Acetilolueno	0.030	0.104	0.133	0.161	0.100	0.067
34	13.10	$\alpha$ -Terpineol	6.450	17.428	10.823	11.574	5.211	13.419
35	13.44	$\gamma$ -Terpineol	0.455	0.689	0.605	0.536	0.362	0.591
36	13.66	Decanal	0.018	0.041	0.043	0.061	0.047	0.031
37	14.43	Nerol	0.024	0.043	0.037	0.100	0.105	0.028
38	14.87	Neral	1.167	1.208	0.376	0.286	0.151	0.988

39	15.04	D-Carvona	0.015	0.027	0.023	0.028	0.026	0.017
40	15.43	Geraniol	0.068	0.177	0.147	0.631	0.675	0.127
41	16.02	Geranial	2.315	2.664	0.664	0.647	0.220	1.992
42	16.24	Perilaldehído	0.061	0.103	0.063	0.087	0.063	0.063
43	16.64	Bornil acetato	0.018	0.026	0.028	0.032	0.066	0.022
44	17.01	Tridecano	0.012	0.017	0.027	0.060	0.117	0.016
45	17.19	trans-Pinocarvil acetato	0.008	0.014	0.010	0.015	0.015	0.010
46	17.38	Undecanal	0.040	0.073	0.070	0.131	0.143	0.059
47	18.23	Mirtenil acetato	0.009	0.009	0.013	0.010	0.044	0.008
48	18.67	$\delta$ -Elemeno	0.294	0.314	0.186	0.367	0.465	0.414
49	19.20	p-Cimen-8-ol	0.136	0.428	0.198	0.193	0.117	0.376
50	19.67	Neril acetato	0.104	0.226	0.151	0.247	0.198	0.184
51	19.97	Cariofileno	0.008	0.011	0.026	0.065	0.138	0.010
52	20.27	Guaia-6,9-dieno	0.010	0.038	0.078	0.193	0.263	0.031
53	20.44	Geranil acetato	0.419	0.940	0.529	1.105	0.681	0.979
54	20.85	$\beta$ -Elemeno	0.129	0.174	0.143	0.373	0.499	0.215
55	21.41	Dodecanal	0.157	0.362	0.285	1.101	1.121	0.317
56	21.73	cis- $\alpha$ -Bergamoteno	0.110	0.206	0.256	0.826	1.267	0.209
57	21.97	$\beta$ -Cariofileno	1.484	2.771	3.002	8.479	9.913	2.688
58	22.53	trans- $\alpha$ -Bergamoteno	1.518	2.736	2.990	9.865	14.442	2.867
59	23.14	Isoledeno	0.026	0.100	0.155	0.496	0.699	0.081
60	23.30	$\alpha$ -Humuleno	0.332	0.655	0.628	2.364	3.068	0.658
61	23.50	trans- $\beta$ -Farneseno	0.080	0.155	0.156	0.583	0.842	0.159
62	23.74	$\beta$ -Santaleno	0.018	0.034	0.035	0.149	0.193	0.045
63	24.11	$\alpha$ -Amorfeno	0.076	0.328	0.489	2.266	3.450	0.307
64	24.36	Germacreno D	0.378	0.543	0.235	1.054	1.255	0.197
65	24.45	$\beta$ -Selineno	0.095	0.201	0.200	0.794	1.091	0.303
66	24.72	cis- $\beta$ -Farneseno	0.124	0.567	0.749	3.558	4.560	0.516
67	24.90	$\alpha$ -Selineno	0.119	0.308	0.330	1.568	2.313	0.312
68	25.11	cis- $\alpha$ -Bisaboleno	0.188	0.384	0.333	1.653	2.342	0.407
69	25.34	$\beta$ -Bisaboleno	3.322	6.752	5.536	27.756	33.865	7.191
70	25.64	cis- $\gamma$ -Bisaboleno	0.040	0.093	0.101	0.561	0.828	0.109
71	25.95	$\delta$ -Elemeno2	0.056	0.145	0.124	0.743	0.944	0.154
72	26.50	$\beta$ -Maaleno	0.034	0.290	0.482	3.260	4.688	0.360
73	26.64	trans- $\alpha$ -Bisaboleno	0.060	0.193	0.208	0.945	2.464	0.215
74	27.26	Germacreno B	0.597	1.017	0.431	1.443	0.947	0.944
75	27.86	Cariofilenil alcohol	0.003	0.038	0.049	0.617	1.273	0.059
76	28.29	(-)-Globulol	0.007	0.014	0.019	0.158	0.779	0.015
77	29.21	Tetradecanal	0.034	0.098	0.060	0.598	0.915	0.101
78	29.62	Selin-6-en-4- $\alpha$ -ol	0.036	0.215	0.107	0.892	1.061	0.142
79	30.01	$\gamma$ -Eudesmol	0.036	0.123	0.101	1.425	0.963	0.146
80	30.48	$\alpha$ -epi-Muurolol	0.016	0.069	0.039	0.464	0.736	0.021
81	30.65	$\delta$ -Cadinol	0.003	0.021	0.014	0.185	0.276	0.026
82	30.82	$\beta$ -Eudesmol	0.009	0.038	0.016	0.207	0.313	0.215

---

83	30.94	Neointermedeol	0.061	0.295	0.132	1.360	1.865	0.016
84	31.44	cis-Sesquisabineno hidrato	0.045	0.226	0.097	1.213	1.803	0.118
85	31.99	$\alpha$ -Bisabolol	0.050	0.265	0.143	1.984	3.274	0.265
86	32.41	Eudesm-7-(11)en-4-ol	0.015	0.130	0.064	0.674	0.673	0.097
87	33.94	E,E-Farnesal	0.004	0.025	0.008	0.142	0.210	0.023
88	36.39	Hexadecanal	0.017	0.064	0.021	0.415	0.724	0.082
89	43.43	Octadecanal	0.000	0.010	0.000	0.064	0.133	0.018

---

### 9.3. ANEXO III

Método de difusión por disco. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*).

