

## Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L

### Comparison of two methods for extraction of essential oil from *Citrus sinensis* L

QF Glicerio León Méndez, MSc. María del Rosario Osorio Fortich, Estudiante Sonia Ruby Martínez Useche

Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica, Cosmética y de Alimentos (GITFCA). Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Cartagena. Campus de Ciencias de la Salud Barrio Zaragocilla, Cartagena, Colombia.

---

#### RESUMEN

**Objetivos:** evaluar la composición química, propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de la especie vegetal *Citrus sinensis* L, obtenidos mediante hidrodestilación e hidrodestilación asistida por la radiación con microondas, así mismo realizar una comparación entre los dos métodos de extracción utilizados.

**Método:** los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación e hidrodestilación asistida por radiación con microondas, a partir del pericarpio de los frutos; se determinó densidad relativa a 20 °C, índice de refracción; solubilidad de los aceites esenciales en etanol 70 % (v/v). La composición química se evaluó mediante cromatografía de gases/espectrómetro de masa.

**Resultados:** los rendimientos oscilaron entre 0,51 y 0,42 %, dependiendo del método de extracción utilizado. El aceite esencial extraído del *Citrus sinensis* L presentó como componente mayoritario el limoneno, independientemente de la metodología de extracción utilizada. Se obtuvo un mayor contenido de aceite esencial cuando se empleó la extracción mediante hidrodestilación asistida por microondas, en comparación con la hidrodestilación convencional.

**Conclusiones:** el rendimiento del aceite esencial de *Citrus sinensis* L (Naranja) es dependiente del método de extracción utilizado para su obtención, se demuestra que la hidrodestilación asistida por microondas es un método rápido y eficiente en comparación con la hidrodestilación convencional.

**Palabras clave:** composición química, aceites esenciales, cinética de extracción, *Citrus sinensis* L.

## ABSTRACT

**Objectives:** to assess the chemical composition and physicochemical properties of essential oil of the plant species *Citrus sinensis* L, obtained by hydrodistillation and microwave radiation-assisted hydrodistillation, and to make a comparison between two extraction methods used.

**Methods:** essential oils were extracted by distillation and microwave radiation-assisted hydrodistillation from the fruit pericarp; relative density at 20 °C, refractive index and the essential oils solubility in ethanol (70 % v/v) were determined. The chemical composition was assessed using chromatography mass spectrometer/gas.

**Results:** the yields ranged from 0,51 to 0,42 %, depending on the extraction method used. The essential oil of *Citrus sinensis* L. by both methods had limonene as a major component. A higher content of essential oil was obtained when the microwave radiation-assisted method was used compared with the conventional hydrodistillation.

**Conclusions:** the yield of the essential oil from *Citrus sinensis* L. (Orange) depends on method of extraction used; microwave-assisted hydrodistillation is faster and more efficient method than the conventional hydrodistillation.

**Keywords:** chemical composition, essential oils, extraction kinetics, *Citrus sinensis* L.

---

## INTRODUCCION

La naranja es el fruto del naranjo dulce, árbol que pertenece al género *Citrus* de la familia de las Rutáceas. Cultivado desde la antigüedad como árbol ornamental y para obtener fragancias de sus frutos. Estos frutos, llamados hespérides, tienen la particularidad de que su pulpa está formada por numerosas vesículas llenas de jugo. Es originaria del sureste de China y norte de Birmania, aunque se conoce en la zona mediterránea desde hace aproximadamente tres mil años; aunque el naranjo dulce no fue conocido hasta 1450. A partir de ese momento fue extendiéndose por toda Europa y alcanza gran popularidad durante la segunda mitad del siglo XV.<sup>1,2</sup>

De la naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, sino que de la cáscara se pueden obtener aceites esenciales (AE) que se utilizan como aromatizantes en diferentes industrias. Su aceite esencial es uno de los ingredientes básicos en las industrias de la perfumería, los alimentos, la agronómica y la farmacéutica.<sup>2</sup>

Los aceites esenciales son considerados metabolitos secundarios de las plantas, estos son fracciones líquidas volátiles que proporcionan aromas y sabores característicos a las plantas.<sup>1</sup> Están constituidos por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos no volátiles.<sup>2-5</sup>

Los aceites esenciales están contenidos en glándulas o vesículas secretoras inmersas en los tejidos de las hojas, flores, corteza (pericarpio) y semillas de los frutos de muchas especies.<sup>3,4</sup>

---

Las plantas pueden producir aceite esencial para diversos fines protegen a la planta de plagas, enfermedades e inclusive de la invasión de otras plantas y atraen insectos y aves (polinizantes). Estas cualidades de protección y atracción, se ven reflejadas en propiedades antisépticas, antiinflamatorias, antidepresivas, afrodisíacas y otras, presentes en mayor o menor grado en la totalidad de los aceites.<sup>1-4,6</sup>

La extracción de los AE se puede realizar por métodos convencionales como la destilación con arrastre de vapor, hidrodestilación (HD) y espacio de cabeza "Head-space" (HS); en la actualidad adquiere gran importancia la extracción con fluidos supercríticos utilizando dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como solvente, y extracción por hidrodestilación asistida por radiación microondas (MWHD), esta última presenta ventajas con respecto a las técnicas tradicionales puesto que es un proceso rápido, eficiente y relativamente económico.<sup>7-10</sup>

El propósito de este trabajo fue obtener AE mediante hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHD), del pericarpio de la especie vegetal *Citrus sinensis* L. y determinar las propiedades fisicoquímicas y su composición química y comparar estos dos métodos de extracción.

## MÉTODOS

### RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El pericarpio de la fruta de naranja (*C. sinensis*), fue recolectado en el barrio Zaragocilla, en la ciudad de Cartagena, Colombia. Se tomaron 1 000 g de pericarpio por semana, en el periodo comprendido de enero a febrero del 2015. El material vegetal fue identificado en el Herbario Gabriel Gutiérrez V. (MEDEL) de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia, registro nacional de colecciones biológicas. Los números de colección de dichas planta fue Osorio M. N°01.

### PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

El pericarpio de las frutas colectadas se lavó con agua desionizada, seleccionándose las que se encontraban frescas, enteras, sin señales de deterioro. Seguidamente se trocearon, pesaron y procesaron inmediatamente.

### PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN DE AE

Obtención del AE por HD, se realizó en un equipo de hidrodestilación del tipo *Clevenger* 500 g del material vegetal, se introdujeron en el balón de extracción, el cual contenía 500 mL de agua destilada. El tiempo de extracción fue de 3 horas.<sup>9-12</sup>

En la obtención del AE por MWHD, se llevó a cabo en un equipo de destilación tipo *Clevenger* con un reservorio de destilación *Dean Stark* adaptado a un sistema de calentamiento por radiación de microondas, un horno microondas convencional marca (*Samsung*, Estados Unidos), con una potencia del 70 %, dentro del cual se colocó un balón de extracción de 4 L con 500 mL de agua destilada y 500 g del material vegetal. El tiempo de extracción fue de 3 horas.<sup>9-12</sup>

En ambos casos los aceites esenciales obtenidos se separaron por decantación e inmediatamente fueron almacenados en viales ámbar a 4 °C hasta la realización de

los respectivos análisis. Los rendimientos en la extracción se evaluaron por triplicado a tiempos de 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 y 180 min, operando siempre bajo las mismas condiciones,<sup>6</sup> según la ecuación 1 siguiente:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{W_{AE}}{W_{MV}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde,  $W_{AE}$  es el peso (g) obtenido del aceite esencial y  $W_{MV}$  corresponde al peso en gramos (g) del material vegetal fresco.

#### DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS DEL AE

A cada muestra de AE se le midieron las siguientes propiedades físicas:

a) *Densidad relativa del AE a 20 °C*: para ello se utilizó un picnómetro limpio y seco de 1 mL de capacidad, se pesó vacío en una balanza analítica marca (OHAUS Pioneer™, Estados Unidos); seguidamente se llenó con 1 mL del AE, tapándose y limpiándose el exceso de muestra. Luego, se pesó el conjunto y por diferencia de pesos se determinó la densidad relativa del AE empleando la ecuación 2.<sup>12</sup> (Ecuación 2)

$$\text{Densidad } \rho \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{[(\text{Peso del picnómetro+muestra})-(\text{Peso del picnómetro})](\text{g})}{\text{Volumen del aceite esencial (mL)}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

b) *Índice de refracción de los aceites esenciales*: la prueba se realizó utilizando un refractómetro marca (Sper Scientific, Estados Unidos). Con la ayuda de un capilar se depositó dos gotas de AE sobre el prisma del refractómetro y se procedió con la lectura a 20 °C.<sup>12</sup>

c) *Solubilidad de los AE en etanol 70 % (v/v)*: en un tubo *eppendorf* de 1,5 mL se adicionaron 100 µL de etanol al 70 % (v/v) y 2 µL del AE; la mezcla se homogenizó en un *vórtex* durante 5 min a 20 rpm.<sup>12</sup>

#### ANÁLISIS DEL AE POR CROMATOGRAFÍA DE GASES/ESPECTRÓMETRO DE MASA (CG/EM)

Se empleó un equipo GC/MS 7890A/5975C *Agilent* (Estados Unidos) en interfase con un detector selectivo de masas HP5973 *Network* conectado en línea con un sistema HP-MS *ChemStation* y la base de datos NIST-2008. Las condiciones de operación fueron columna capilar HP-5MS (5 % phenylmethylsilox, 30 m x 250 µm x 0.25 µm), temperatura inicial 45 °C, temperatura de la línea de transferencia de 280 °C y volumen de inyección 1,0 µL en modo *split* (20: 1), con temperatura del inyector de 250 °C.<sup>12-15</sup> La detección de los compuestos se realizó por comparación del espectro de masas, en cada tiempo de retención, con los reportados en la base de datos NIST-2008.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados correspondientes a tres ensayos independientes se expresaron como el promedio ± el error estándar de la media (ESM) y se analizaron mediante Prueba

---

*t de Student*, valores de  $P < 0,05$  fueron considerados significativos. Para los análisis estadísticos el paquete *GraphPadPrism* Versión 5,00 para *Windows*.

## RESULTADOS

La cinética presentada en la figura muestra la eficacia de la hidrodestilación asistida por microondas sobre la hidrodestilación en la extracción del aceite esencial del pericarpio de la naranja. Para el método de MWHD, el tiempo con un mayor rendimiento es 60 min, con un rendimiento porcentual para el AE de 0,51 %, mientras que en el caso de la HD se alcanza a los 180 minutos, con un rendimiento porcentual para el AE de 0,42 %.

Los AE del pericarpio de la naranja presentan una coloración translúcida. Las propiedades fisicoquímicas de estos aceites son descritas en la tabla 1.

**Tabla 1.** Rendimiento y propiedades físicas de los AE de la especie *Citrus sinensis* obtenidos a través del método de hidrodestilación por arrastre de vapor (HD) e hidrodestilación asistida por microondas (MWHD)

ANÁLISIS	<i>C. sinensis</i>	
	HD	MWHD
Rendimiento (%)	0,42±0,003 <sup>a</sup>	0,51±0,002 <sup>b</sup>
Índice de refracción 20 °C	1,4701±0,0003 <sup>a</sup>	1,4710±0,0002 <sup>a</sup>
Solubilidad EtOH 70 % (v/v)	Positiva	Positiva
Densidad (g/mL) a 20 °C	0,8423±0,0001 <sup>a</sup>	0,8448±0,0003 <sup>a</sup>

Filas sin ninguna letra en común presentaron diferencias estadísticas significativas a un nivel de confianza ( $P < 0,05$ ).

La identificación de los componentes, los tiempos de retención y porcentajes de abundancia son reportados en la tabla 2. Los monoterpenos son los metabolitos volátiles con mayor abundancia en los AE. El compuesto mayoritario encontrado el limoneno con un porcentaje de abundancia relativa de (89,68 %) y (92,91 %) para los métodos de HD y MWHD respectivamente.

**Tabla 2.** Componentes mayoritarios detectados en el AE de *C. sinensis* obtenido mediante HD y MWHD

Compuesto	% Abundancia relativa , (tr, min)	
	<i>C. sinensis</i>	
	HD	MWHD
$\alpha$ -pineno	0,38 (9,879)	0,50 (9,978)
Sabineno	0,20 (11,353)	0,22 (11,589)
$\beta$ -Mirceeno	1,13 (12,029)	1,14 (12,111)
Limoneno	89,68 (13,304)	9,91 (13,202)
Linalool	0,59 (15,706)	0,65 (15,894)
Terpinoleno	0,4 (18,541)	0,5 (18,679)
Monoterpenos	100 %	100 %
Sesquiterpenos	0	0
Otros	0	0
Total compuestos identificados	92,38 %	95,92 %

Tiempo de retención (tr) y abundancia relativa (%) de los aceites esenciales, identificados por comparación con espectro de masas de referencia de la base de datos NIST - 2008.

## DISCUSION

Se encontraron diferencias estadísticas significativas para el rendimiento según el método de extracción empleado. Estos resultados indican que la técnica MWHD mostró ser el método más efectivo en la extracción del AE de *C. sinensis*. Esto es debido a la acción de las microondas sobre las paredes glandulares que contiene el aceite esencial, lo cual hace que el material vegetal se rompa más rápido y eficientemente. La hidrodestilación asistida por microondas utiliza tres formas de transferencia de calor dentro de la muestra: la irradiación, conducción y

convección. Como resultado, produce calor con mayor rapidez dentro y fuera de las glándulas. Con la HD esta transferencia de calor solo puede ocurrir por conducción y convección, lo que la hace menos efectiva.<sup>9-12,15-16</sup>

Con respecto al índice de refracción, los resultados obtenidos no presentaron diferencias estadísticas significativas para los dos métodos de extracción. El AE obtenido por HD presentó un valor de 1,4701, mientras que por MWHD fue de 1,4710, respectivamente. Yáñez *et al.*<sup>17</sup> reportó para el AE de *Citrus sinensis* obtenido por el método de MWHD un valor de 1,477. Tomando en cuenta que este parámetro es exclusivo de cada AE, es muy importante su determinación debido a que su valor cambia si el AE se diluye o mezcla con otras sustancias; y por lo tanto; es una medida de la calidad y un parámetro que ayuda a controlar la adulteración.<sup>15,18</sup> Al observar los valores de densidad no se observaron diferencias estadísticas significativas, siendo muy similares a los reportados por Yáñez *et al.*<sup>17</sup>

Los resultados de los análisis de CG/EM indican que en ambas metodologías se obtienen componentes que aparecen a un mismo tiempo de retención y con un porcentaje de abundancia relativa similar.

Yáñez y otros encontraron como componente mayoritario del aceite esencial de *C. sinensis* al limoneno (90,93 %).<sup>17</sup> Resaltado que este compuesto está presente en el perfil cromatográfico y es el componente mayoritario igualmente.

Es visible una pequeña variación con respecto a los componentes minoritarios encontrados por Yáñez y otros,<sup>17</sup> ocasionado por el efecto de diferentes factores ambientales sobre el contenido de compuestos en plantas medicinales.<sup>11,15,17-19</sup> La intensidad de la luz y el fotoperíodo, que varían de región en región; época de recolección y edad de las plantas afectan la composición del aceite esencial.<sup>19</sup>

El método de MWHD demostró ser la técnica más efectiva en la extracción de los aceites esenciales, igualmente al compararla con otras técnicas de extracción por solvente tales como *Soxhlet* y extracción acelerada por solvente, MWHD es un método moderno, verde y rápido.<sup>15,20,21</sup>

El rendimiento del AE de *Citrus sinensis* L (Naranja) es dependiente del método de extracción utilizado para su obtención. Químicamente el aceite esencial contiene mayoritariamente monoterpenos siendo el limoneno el que se encuentra con un mayor porcentaje de abundancia relativa. Destacando que el proceso de hidrodestilación asistida por radiación con microondas es considerada un método rápido, eficiente, verde y relativamente económico en comparación con la hidrodestilación convencional.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Cartagena por facilitar espacio, recursos y tiempo de los investigadores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Matiz G, Osorio MR, Camacho F, Atencia M, Herazo J. Diseño y evaluación in vivo de fórmulas para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum* L) y ácido acético. Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud. 2012; 32(1):1-27.
2. Juárez JR, Castro AJ, Jaúregui JF, Lizano JV, Carhuapoma M, Choquesillo FF, et al. Chemical composition, antibacterial activity of essential oil *Citrus sinensis* L. (Sweet orange) and formulation of a pharmaceutical form. Ciencia e Investigación. 2010; 13(1):9-13.
3. Sulbarán B, Ojeda G, Ysambertt F, Cabrera L. Volatile fraction composition of Venezuelan sweet orange essential oil (*Citrus sinensis*). Ciencia. 2003; 11(1):55-60.
4. Martínez J, Sulbarán B, Ojeda G, Ferrer A, Nava R. Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. Rev. Fac. Agron. 2003; 20:502-512.
5. Olivero J, Caballero K, Jaramillo B, Stashenko EE. Repellent activity of the essential oils from *Lippia origanoides*, *Citrus sinensis* and *Cymbopogon nardus* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*, Herbst. Salud UIS. 2009; 41:244-250.
6. Vásquez O, Alva A, Marreros J. Extracción y caracterización del aceite esencial de Jengibre (*Zingiber officinale*). Revista Amazónica de Investigación Alimentaria. 2001; 1(1):38-42.
7. Guerra L, Soto L, Medina Z, Ojeda G, Peña J. Antibacterial activity of the essential oil of orange barks (*Citrus sinensis*) var. Valencia against positive and negative gram microorganisms. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2014; 31:215-232.

8. Lota ML, de Rocca Serra D, Jacquemond C, Tomi F, Casanova J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange. *FlavourFragr. J.* 2001; 16: 89–96.
9. Golmakani M, Rezaei K. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry.* 2008; 109(4): 925-930.
10. Chemat F, Lucchesi ME, Smadja J, Favretto L, Colnaghi G, Visinoni F. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Analytica Chimica Acta.* 2006; 55(1): 157-160.
11. Rincón CA, Castaño JC, Ríos E. Actividad biológica de los aceites esenciales de *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 2012; 17(2): 160-171.
12. Torrenegra M, Matiz G, León G. Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. *Revista Cubana de Farmacia.* 2015 [Citado: 12 de noviembre de 2015]. 49; (3). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol49\\_3\\_15/far11315.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol49_3_15/far11315.htm)
13. Tomy GT, Stern GA, Muir DC, Fisk AT, Cymbalisty CD, Westmore JB. Quantifying C10-C13 polychloroalkanes in environmental samples by high-resolution gas chromatography/electron capture negative ion high-resolution mass spectrometry. *Anal Chem.* 1997; 69(14): 2762-71.
14. Baharum SN, Bunawan H, GhaniMaA, Mustapha WAW, Noor NM. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds. using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS). *Molecules.* 2010; 15(10): 7006-15.
15. Torrenegra M, Granados C, Osorio M, León G. Method comparison of hydrodistillation microwave radiation-assisted (MWHHD) front hydrodistillation (HD) in the extraction of essential oil of *Minthostachys mollis*. *Inf. Tecnol.* 2015; 26(1): 117-122.
16. Stashenko E, Ruíz CA, Arias G, Durán DC, Salgar W, Cala M, Martínez MR. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS analysis and PCA. *J. Sep. Sci.* 2010; 33: 93-103.
17. Yáñez X, Lugo LL, Parada DY. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *BISTUA.* 2007; 5(1): 3-8.
18. Granados C, Yáñez Y, Santafé G. 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.* 2012; 10(1): 12-23.
19. Tafurt G, Martinez J, Stashenko E. Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Química.* 2005; 34(1): 43-55.
20. Wang HW, Liu YQ, Wei SL, Yan ZJ, Lu K. Comparison of Microwave-Assisted and Conventional Hydrodistillation in the Extraction of Essential Oils from Mango (*Mangifera indica* L.) Flowers. *Molecules.* 2010; 15, 7715-23.
21. Wang HW, Liu YQ, Wei SL, Yan ZJ, Jin X. Comparative Chemical Composition of the Essential Oils Obtained by Microwave-Assisted Hydrodistillation and

Hydrodistillation from *Agrimonia pilosa* Ledeb. Collected in Three Different Regions of China. Chemistry & Biodiversity. 2012;9(3):662–668.

Recibido: 27 de febrero de 2015.

Aprobado: 21 de marzo de 2015.

*Glicerio León Méndez*. Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Campus de Ciencias de la Salud Barrio Zaragocilla, Cartagena, Colombia. Teléfono: (575)6699771. Correo electrónico: gleonm1@unicartagena.edu.co