

ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES COLOMBIANOS — I

Aceites Esenciales de Naranjas (Primera Parte)

EDUARDO CALDERÓN GÓMEZ *

LUZ STELLA OSPINA DE NIGRINIS **

JAIRO CALLE A. ***

Trabajo realizado en el Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional.

Los autores agradecen la colaboración de la doctora RUTH DE ESTRADA y del señor JAIME FUENTES.

INTRODUCCION

Dentro de un proyecto de investigación sobre aceites esenciales colombianos, copatrocinado por Colciencias, se ha iniciado el estudio de los aceites esenciales de naranjas.

El presente es un informe preliminar sobre algunos de los resultados obtenidos en la primera etapa del trabajo.

1. — MATERIALES

Para esta primera etapa se trabajó con muestras de naranjas dulces procedentes de regiones cercanas a Bogotá. En un caso y con fines de comparación se trabajó con naranjas amargas (mues-

* Profesor Titular de la Universidad Nacional.

** Profesora Asociada de la Universidad Nacional.

*** Profesor Asistente de la Universidad Nacional.

tra N° 8). En cada caso se adquirió un bulto (unidad de mercadeo que contiene aproximadamente de 260 a 290 naranjas); los bultos se numeraron de la manera siguiente:

<i>Nº de la muestra</i>	<i>Procedencia</i>	<i>Altura de la localidad sobre el nivel del mar</i>	<i>Temperatura promedio</i>
1	San Martín (Meta)	415 m.	26°C
2	Pauna (Boyacá)	1.155 m.	22°C
3	Pacho (Cundinamarca)	1.799 m.	19°C
4	La Mesa (Cundinamarca)	1.298 m.	20°C
5	Fusagasugá (Cundinamarca)	1.727 m.	19°C
6	Melgar (Tolima)	323 m.	26°C
7	Guateque (Boyacá)	1.841 m.	19°C
8	La Palma (Cundinamarca)	1.462 m.	20°C

Patrón de referencia:

Se utilizó un aceite esencial de naranja, obtenido por destilación, de procedencia española, suministrado especialmente por la casa Lucta. Se designó como muestra N° 9.

2. METODOS

2.1. *Obtención del aceite.*

Las cortezas de las naranjas, separadas por pelado manual, se molieron en un molino para granos y se sometieron inmediatamente a extracción con arrastre de vapor, recogiendo el destilado y separando luego el aceite por decantación. El aceite obtenido se filtró por sulfato de sodio anhidro y se almacenó bajo refrigeración en recipientes adecuados. Cada aceite se designó con el número correspondiente a la muestra original.

Nota: El tratamiento con vapor de agua debe hacerse lo más pronto posible después de la separación de las cortezas, para obtener el máximo rendimiento.

2.2. *Determinación de las constantes físicas.*

Utilizando las técnicas de la USP XVIII (1) se determinaron: Índice de refracción, densidad, rotación angular y solubilidad.

2.3. *Ensayos químicos.*

Siguiendo las técnicas del Guenther (2) se determinaron: Índice de acidez, índice de ésteres antes y después de acetilación expresados como acetato de linalilo. Además siguiendo la técnica de la USP XVIII (3) pero determinando el punto final con azul de bromocresol, se determinó el contenido de aldehídos totales expresados como decanal.

2.4. *Ensayos de pureza.*

Para investigar la presencia de metales pesados, provenientes de una posible contaminación durante el proceso de obtención, se realizaron los ensayos ordenados por la USP XVIII (4).

2.5. *Estudio espectroscópico.*

Espectros infrarrojos: Se empleó un espectrofotómetro IR Perkin Elmer, modelo 700. La muestra se colocó en forma de película entre dos cristales de cloruro de sodio.

Espectros ultravioletas: Se empleó el espectrofotómetro Hitachi Perkin Elmer, modelo 139 y se siguió el procedimiento indicado por la USP XVIII (5).

2.6. *Ensayos cromatográficos.*

Cromatografía en capa fina.

Después de varios ensayos se estableció la siguiente técnica:

Adsorbente	:	Sílica Gel-G sobre placas de vidrio de 20 x 20 cms., espesor de 250 micrones. Las placas se activaron por calentamiento a 150°C, durante media hora.
Solvente	:	Benceno-acetato de etilo 95:5.
Cámara	:	Saturación durante 24 horas; temperatura interior: 22°C.
Recorrido	:	15 cms. (tiempo aproximado 45 minutos).
Muestra	:	20 microlitos de solución al 10% de aceite esencial en acetona o de limoneno en acetona.

Reveladores	: (6) (7) .
Compuestos carbonílicos	: 2,4 dinitrofenilhidrazina (modificado).
Fenoles	: Acido sulfanílico diazotado.
Alcohol'es	: Acido fosfomolibdico.
Terpenos	: Anisaldehído, tricloruro de antimonio, vainillina.
Peróxidos	: Yoduro de potasio en ácido acético glacial.

Cromatografía en fase gaseosa (8).

Se empleó un cromatógrafo Perkin Elmer, modelo 820 con detector de conductividad térmica. Además de los cromatogramas para cada aceite se realizó la valoración de limoneno utilizando n-hexano como patrón interno y limoneno como referencia.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

Columna	: Tubo de acero inoxidable.
Longitud de la columna	: 12 pies.
Diámetro interior	: $\frac{1}{8}$ de pulgada.
Material de relleno	: Chrom W HMDS Tamiz 80/100.
Fase líquida	: UCON oil - 50 - HB.
Gas de transporte	: Helio.
Presión del helio	: 29 libras/pulg ² .
Temperatura de la columna	: 105°C.
Temperatura del inyector	: 150°C.
Temperatura del detector	: 120°C.
Corriente del detector	: 185 ma.
Atenuación	: 16.

La identificación del limoneno en los aceites esenciales se efectuó por comparación del tiempo de retención con relación al limoneno patrón.

3. — RESULTADOS

3.1. *Rendimiento en la obtención del aceite.*

<i>Número muestra</i>	<i>Peso de corteza procesada</i>	<i>Vol. de aceite obtenido (ml.)</i>	<i>Peso del aceite (g)</i>	<i>% en peso</i>
1	9,0 k.	180	161,5	1,63
2	7,85 k.	120	106,8	1,3
3	9,0 k.	150	134,9	1,4
4	10,0 k.	80	71,2	0,63
5	8,5 k.	130	116,7	1,3
6	7,0 k.	120	106,8	1,4
7	9,3 k.	175	157,2	1,6
8	8,0 k.	140	125,8	1,3

Notas: 1) El peso de la corteza procesada fue obtenido en cada caso a partir de un bulto de naranjas;

2) Según la bibliografía (9) el rendimiento normal en la obtención de aceite de naranjas por destilación oscila entre 1 y 2%.

3.2. *Solubilidad.*

Las nueve muestras cumplen con las especificaciones de la USP XVIII para solubilidad.

3.3. *Constantes físicas.*

<i>Nº de la muestra</i>	<i>Ind. de refracción</i>	<i>Densidad</i>	<i>Rotación angular</i>
1	1,4715	0,841	+ 97,4°
2	1,4715	0,842	+ 97,5°
3	1,4717	0,844	+ 96,8°
4	1,4724	0,844	+ 96,9°
5	1,4721	0,843	+ 90,0°
6	1,4729	0,844	+ 90,0°
7	1,4719	0,844	+ 92,01°
8	1,4732	0,849	+ 87,1°
9	1,4727	0,843	+ 101,2°

3.4. *Ensayos químicos.*

Nº de muestra	Ind. de acidez	Ind. ésteres antes de acetilar (como acetato de linatilo)	Ind. de ésteres después de acetilar
1	0,43	64,2	166,5
2	0,67	67,2	139,5
3	0,53	70,0	111,3
4	0,85	67,6	126,7
5	0,65	64,0	118,3
6	0,55	58,3	95,2
7	0,55	64,5	88,3
8	1,1	52,8	91,5
9	1,06		

3.5. *Valoración de aldehídos expresados como decanal.*

Nº de la muestra	% de aldehídos
1	2,8
2	2,4
3	2,2
4	2,0
5	3,3
6	1,24
7	2,90
8	1,4
9	1,24

Nota: La USP XVIII da como límites los siguientes valores: no menos de 1,2% y no más de 2,5%.

3.6. *Metales pesados.*

Todas las muestras dan ensayos negativos para metales pesados.

3.7. *Espectros al infrarrojo.*

Se incluyen los espectros del Nº 1 al Nº 9 correspondientes a las muestras estudiadas. Cualitativamente los espectros se corresponden entre sí. Puede observarse cómo en los aceites obtenidos en el laboratorio aparecen constantes algunas bandas, las cuales no aparecen en el espectro del aceite tomado como referencia.

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>San Martín (Meta)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>1</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

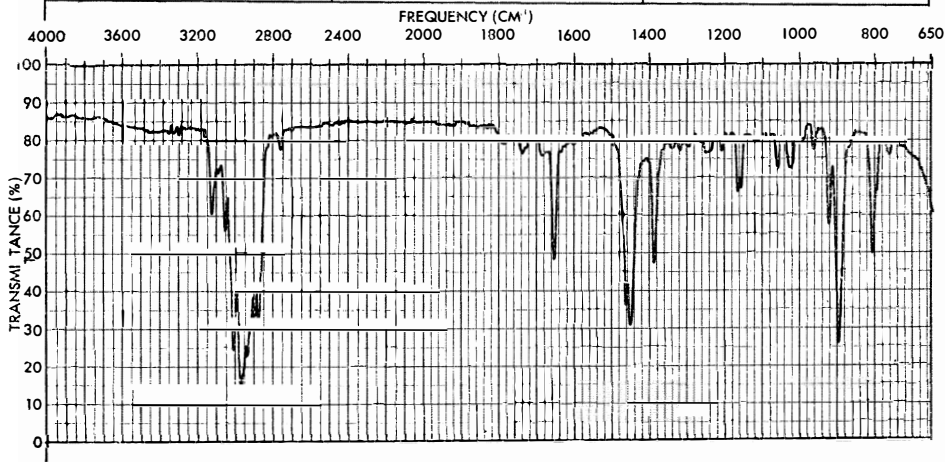


Figura Nº 1

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Pauna (Boyacá)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>2</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

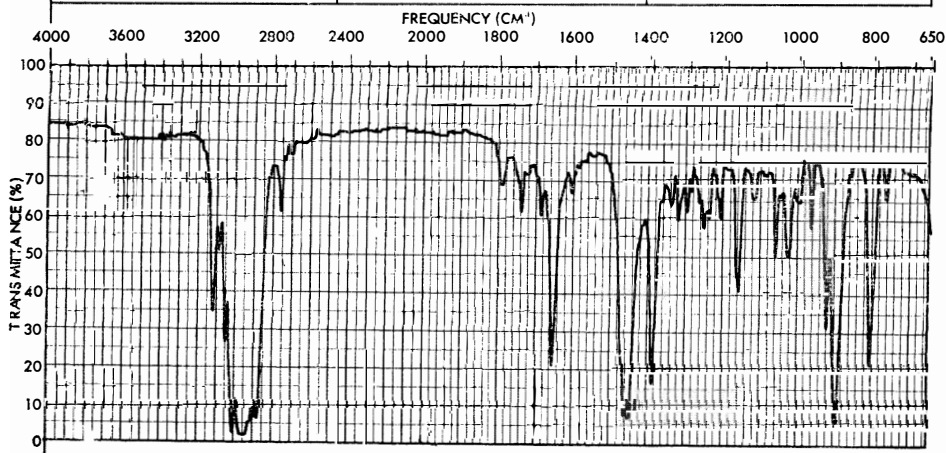


Figura Nº 2

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Pacho (Cundinamarca)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>3</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

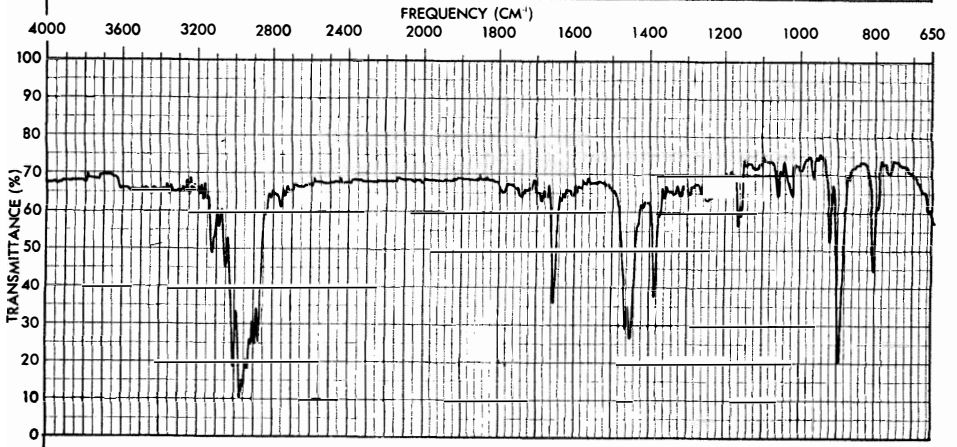


Figura Nº 3

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>La Mesa (Cundinamarca)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>4</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

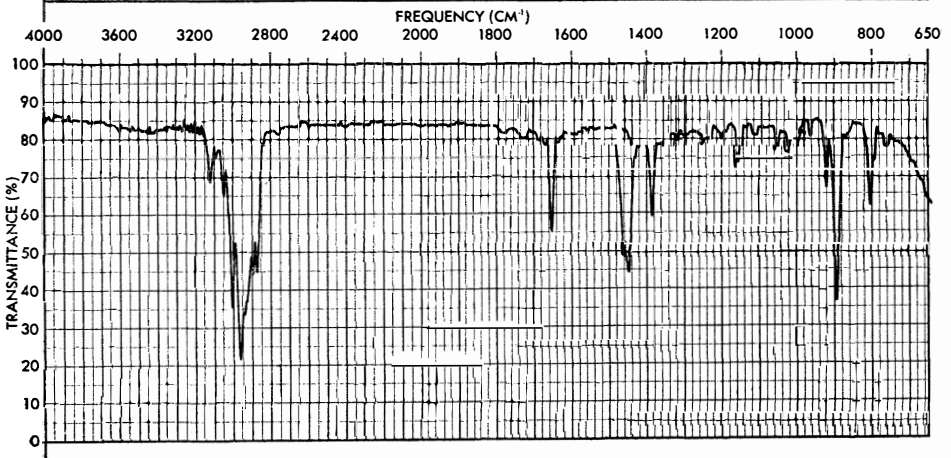


Figura Nº 4

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Fusagasugá (Cundinamarca)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>5</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

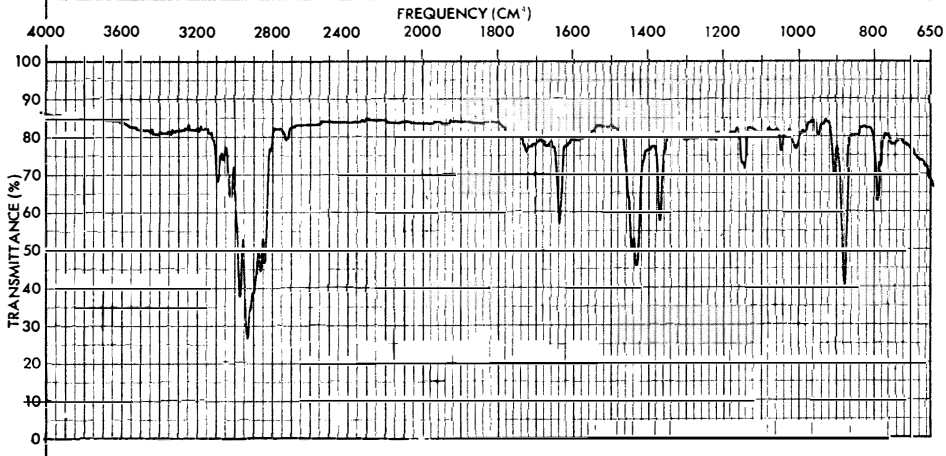


Figura Nº 5

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Melgar (Tolima)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>6</u> SAMPLE 1 <u>Aceite Esencial de naranjas dulces.</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		

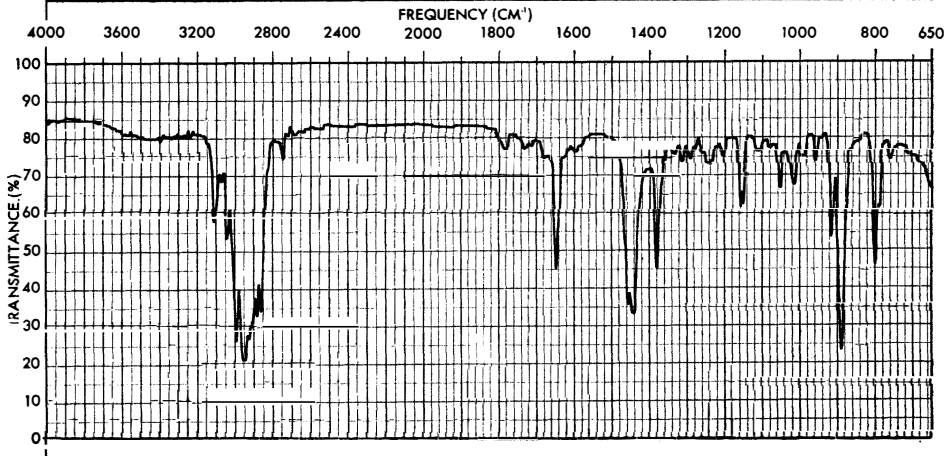


Figura Nº 6

SAMPLE _____ SPECTRUM NO. _____

SAMPLE _____ SPECTRUM NO. _____

NO. 007-1061

REMARKS Aceite Esencial de naranjas dulces obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Guateque (Bovaca)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>7</u>
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	SAMPLE 2 _____
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
	OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>	

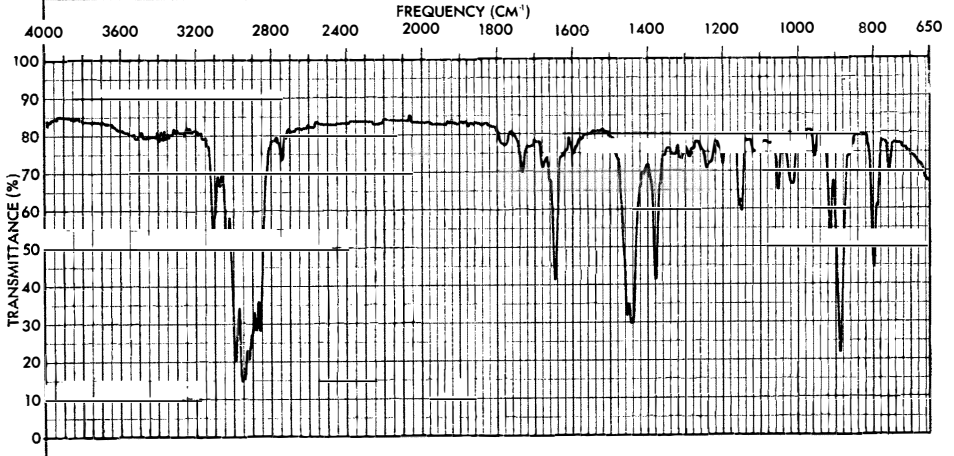


Figura Nº 7

NO. 007-1061

REMARKS Aceite Esencial de naranjas amargas obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>La Palma (Cundinamarca)</u>	PERKIN-ELMER MODEL 700 SPECTRUM NO. <u>8</u>
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS <u>0.025 mm.</u>	SAMPLE 2 _____
	DATE <u>Agosto de 1972</u>	
	OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>	

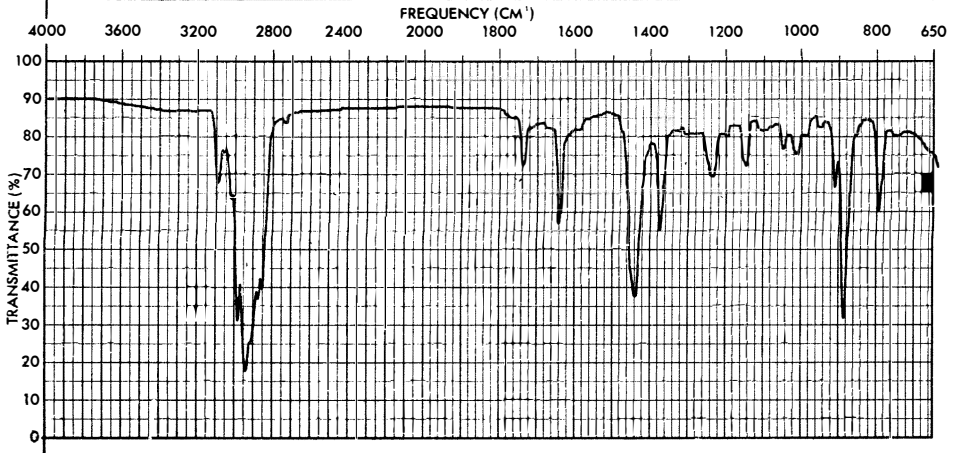


Figura Nº 8

NO 007-1061

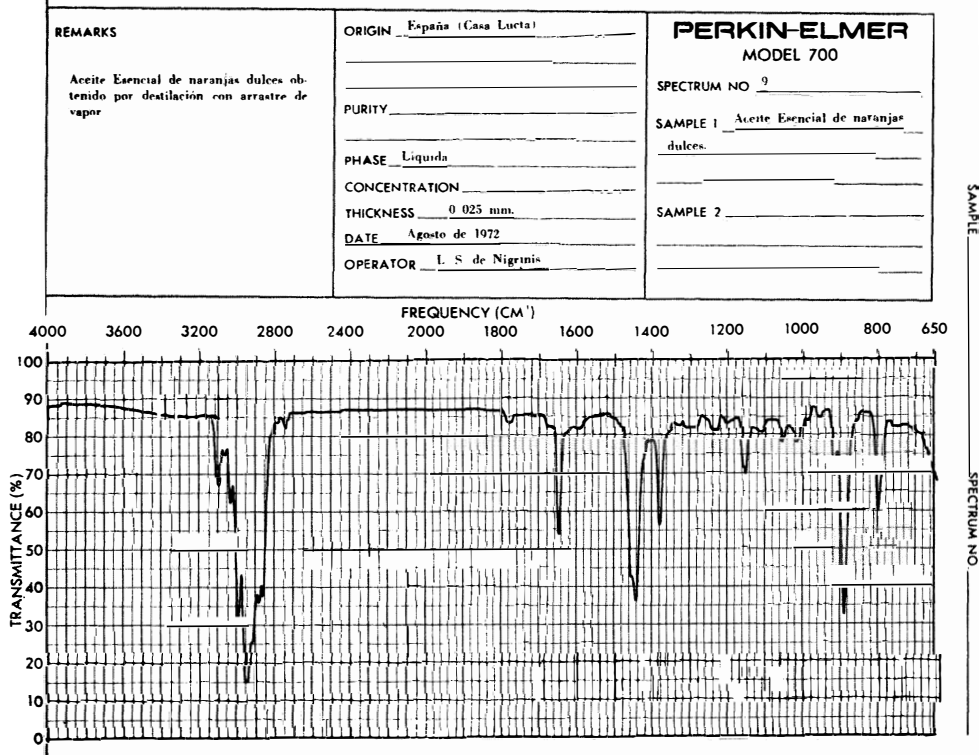


Figura N° 9

3.8. Espectros al ultravioleta.

Los espectros al ultravioleta obtenidos por nosotros corresponden al del patrón.

3.9. Cromatografía en capa fina.

Las nueve muestras estudiadas dan resultados positivos para compuestos carbonílicos y terpenos. No se encuentran fenoles, alcoholes ni peróxidos.

Las figuras números 10, 11 y 12 muestran esquemáticamente los resultados positivos obtenidos.

3.10. Cromatografía en fase gaseosa.

Nº de la muestra	% de limoneno
1	62
2	79
3	71
4	61
5	60
6	79
7	84
8	81
9	90

4. — DISCUSION DE LOS RESULTADOS

De los resultados anteriores que, como se dijo inicialmente, deben considerarse como preliminares, se puede deducir:

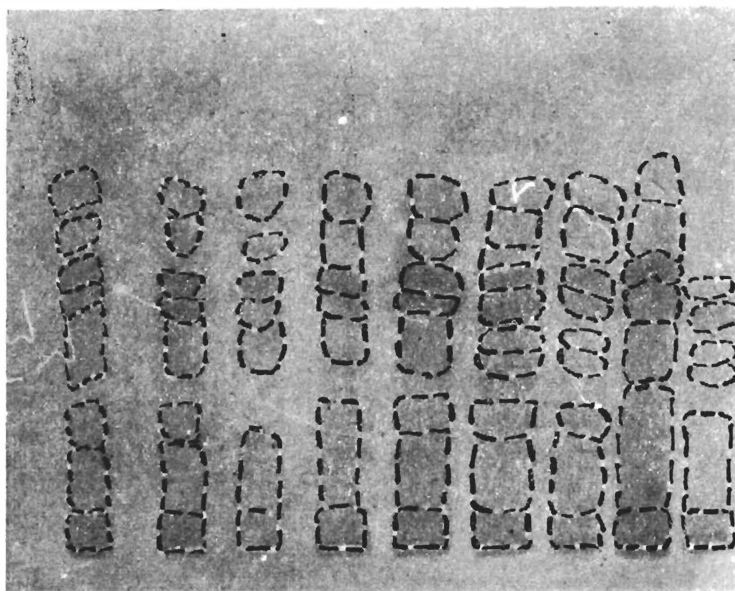


Figura Nº 10.— COMPUESTOS CARBONILICOS. Revelador: 2,4 dinitrofenilhidrazina.

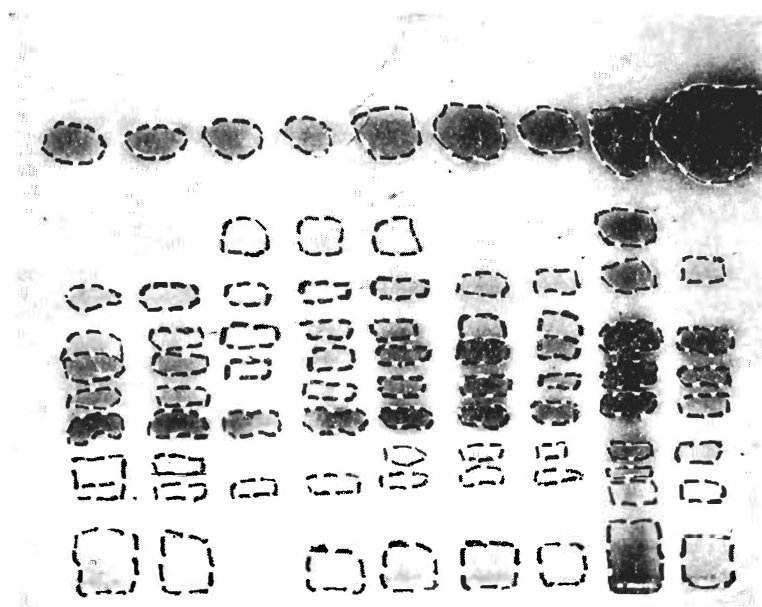


Figura N° 11. — COMPUESTOS TERPENICOS. Revelador: tricloruro de antimonio - tetracloruro de carbono.

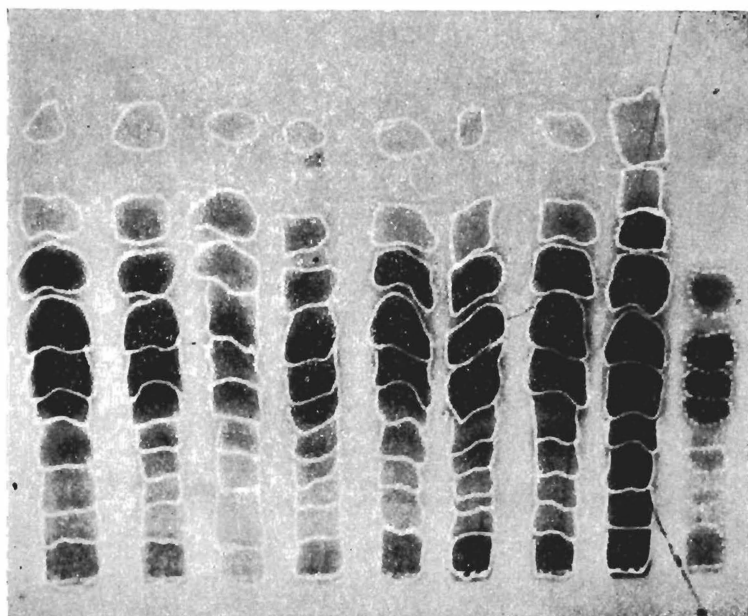


Figura N° 12. — COMPUESTOS TERPENICOS. Revelador: anisal-
dehído - ácido sulfúrico.

4.1. El rendimiento en la obtención de los aceites esenciales se encuentra dentro de los valores citados en la bibliografía como normales.

En el caso de la muestra N^o 4 el bajo rendimiento puede atribuirse a que se trataba de naranjas que no habían alcanzado completamente la madurez.

4.2. Las constantes físicas y químicas de los aceites obtenidos por nosotros están muy próximas entre sí y son muy similares a los valores de la muestra patrón.

4.3. El porcentaje de aldehídos expresados como decanal con excepción de la muestra N^o 6, es siempre mayor que el de la muestra patrón, y se encuentra dentro de los límites dados por la USP XVIII, excepto el de la muestra N^o 1 cuyo valor es más alto.

4.4. Observando los espectros infrarrojos, puede verse cómo en los aceites obtenidos en el laboratorio aparecen constantes algunas bandas, las cuales no aparecen en el espectro del patrón. Actualmente se trabaja en aclarar este punto.

4.5. El porcentaje de limoneno es variable en todas las muestras y es mayor en el patrón de referencia.

5. — CONCLUSIONES

Estos resultados preliminares permiten suponer que desde el punto de vista de rendimiento y calidad es posible pensar en la obtención industrial de aceites esenciales de naranjas (por lo menos a partir de las muestras estudiadas hasta ahora).

Nota: En la actualidad se trabaja en el estudio de naranjas procedentes de otras regiones del país.

RESUMEN

Dentro de un proyecto de investigación sobre aceites esenciales colombianos copatrocinado por COLCIENCIAS, se ha realizado el estudio de los aceites esenciales de siete variedades de naranjas dulces y una de naranjas amargas. Los aceites se obtuvieron por destilación con arrastre de vapor. Se calculó el rendimiento, se de-

terminaron las constantes físicas y químicas, se valoraron limoneno y aldehídos totales (como decanal), se hizo el estudio cromatográfico en capa delgada y en fase gaseosa y se tomaron los espectros de absorción al ultravioleta y al infrarrojo. Los resultados obtenidos tanto en el rendimiento de los aceites como en sus propiedades permiten pensar en la utilización comercial de estos productos.

SUMMARY

The essential oil from seven varieties of sweet oranges and one variety of bitter oranges were studied. This is a part of the program on essential oils supported by Colciencias.

The essential oils were obtained by steam distillation. This work induced the determination of their physical-chemical constants, total aldehydes (as decanal) and the determination of the nature of the compounds by TLC and GLC. The UV and IR spectra were also determined.

The amount of essential oil in the citrus fruits as well as their properties are very much like the reported in the literature.

Therefore the oils could be used commercially.

RÉSUMÉ

Dans le cadre d'un programme de recherches sur les huiles essentielles colombiennes réalisé avec le concours de Colciencias, nous avons étudié les huiles de sept variétés d'oranges douces et d'une variété d'oranges amères. L'extraction a été effectuée par entraînement à la vapeur. Nous avons déterminé les rendements, les constantes physico-chimiques et dosé le limonène et les aldehydes totaux. Les extraits ont été étudiés par chromatographie en couche mince et en colonne ainsi que par spectroscopie UV et IR.

Les résultats obtenus permettent d'envisager l'utilisation commerciale de ces huiles.

BIBLIOGRAFIA

1. The United States Pharmacopeia XVIII, 462.
2. GUENTHER. The essential Oils, D. Van Nostrand Company, New York, 1948. Vol. 1, pág. 263.

3. The United States Pharmacopeia XVIII 1970, pág. 359.
4. The United States Pharmacopeia XVIII 1970, pág. 897.
5. The United States Pharmacopeia XVIII 1970, pág. 946.
6. E. STAHL. Thin layer chromatography, Springer, Verlag, Berlin, segunda edición. 1969, pág. 857 - 871.
7. M. R. FIGUEROA, F. M. MONTES. Farmacia Nueva. 1966, XXXI, pág. 349.
8. WILLIAM D. MACLEOD JR. J. Agri. Food Chem. 1968, 5, pág. 884.
9. H. GARCÍA. Esencias Naturales. Aguilar, S. A. Madrid. 1953, pág. 178.