

Caracterización química del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.)

Chemical characterization of essential oils of grapefruit (*Citrus paradisi* L.)

L. Soto¹, G. Ojeda de Rodriguez¹, L. Rojas², B. Sulbarán¹,
J. Peña¹, M. Berradre¹ y V. Fernández¹

¹Laboratorio de Alimentos, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad de Zulia, Apartado 526, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

²Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Venezuela.

Resumen

El aroma es un factor muy importante en las propiedades de los alimentos, seguido del sabor, textura y color. El aceite esencial obtenido de la piel de los cítricos, es rico en compuestos volátiles que confieren aroma, por lo que tienen aplicaciones en la industria alimentaria y en el campo de la cosmetología, aromaterapia, y perfumería. Los componentes volátiles del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) cultivada en el municipio Mara del estado Zulia (República Bolivariana de Venezuela), fueron aislados por el método de hidrodestilación y determinados por las técnicas cromatografía de gas con detector fotométrico de llama (GC- FID) y cromatografía de gas-espectrometría de masa (GC-MS). Para su identificación se emplearon los tiempos de retención respecto a estándares comerciales y los espectros de masas característicos. Un total de 50 compuestos fueron separados e identificados. El monoterpeno limoneno fue el componente más abundante de esta fracción con un 70,04%. Los aldehídos se detectaron en proporciones de 6,32%, mientras que los alcoholes en un 7,77%, constituyendo los principales componentes en la fracción oxigenada. Los sesquiterpenos representaron la menor proporción, sin embargo, el sesquiterpeno encontrado en mayor proporción fue el (E)- cariofileno con un 1,64%. La composición de los constituyentes del aceite esencial de toronja venezolano es similar al aceite de toronja estudiado en otros países, por lo que se sugiere su producción en Venezuela.

Palabras clave: (*Citrus paradisi* L.), aceite esencial, GC-FID, GC-MS.

Recibido el 20-6-2012 ● Aceptado el 1-3-2013

Autor de correspondencia e-mail: grodriguez53@gmail.com

Abstract

The aroma is a very important factor in the properties of the food, followed by the flavor, texture and color. The essential oil obtained from citrus peel, is rich in volatile compounds that give flavor, so have applications in the food industry and in the field of cosmetology, aromatherapy, and perfume. The volatile components of grapefruit peel essential oil (*Citrus paradisi* L.) grown in the Mara county of Zulia state, (República Bolivariana de Venezuela) were isolated by the hydrodistillation method and determined by gas chromatography with FID detection (GC-FID) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. The essential oil components were identified by the comparison the retention times with standards and mass spectra, using a HP-5 capillary column. A total of 50 components were identified in the grapefruit essential oil. The monoterpene limonene was the most abundant: 70.04%. The aldehydes were detected in proportions of 6.32%, while the alcohols in a 7.88%, constituting the main components in the oxygenated fraction. The sesquiterpenes represented the lowest proportion of components, however the sesquiterpene found in greater proportion was (E) caryophyllene with 1.64%. The composition of the constituents of grapefruit Venezuelan essential oil is similar to grapefruit essential oil studied in other countries, so it is suggested its production in this country.

Keywords: (*Citrus paradisi* L.), essential oil, GC-FID, GC-MS.

Introducción

Los aceites esenciales obtenidos de frutos cítricos son mezclas de aproximadamente 100 componentes, los cuales dependen de la variedad de fruta y del método de extracción empleado (Nannapaneni *et al.*, 2009), conteniendo de un 85 al 90% de compuestos volátiles y de 1 al 15% de compuestos no volátiles (Fisher y Phillips 2008).

Para extraer aceite esencial de un fruto, pueden emplearse diferentes métodos, entre ellos se destacan hidrodestilación, prensado en frío, extracción con fluidos supercríticos (Nakatsu *et al.*, 2000) y extracción por hidrodifusión con microondas y gravedad (Bousbia *et al.*, 2009).

Venezuela figura entre los principales productores latinoamericanos

Introduction

The essential oils obtained from citric fruits are mixes of approximately 100 components, which depend on the variety of the fruit and the extracting employed method (Nannapaneni *et al.*, 2009), containing from 85 to 90% of volatile compounds, and from 1 to 15% of non volatile compounds (Fisher and Phillips 2008).

To extract the essential oil of a fruits, different methods can be employed; among these are hydrodistillation, cold-pressed, extractions with super-citric fluids (Nakatsu *et al.*, 2000) and extraction by hydro-diffusion and gravity (Bousbia *et al.*, 2009).

Venezuela is one of the main Latin American producers of citric, but at the same time, it invests a high

de cítricos, pero, a su vez, invierte una elevada cantidad de dinero en la importación de insumos industriales derivados de estos frutales, incluyendo los aceites esenciales, cuya demanda nacional se mantiene insatisfecha (Amr, 2007).

Las industrias procesadoras de jugos cítricos en Venezuela utilizan grandes cantidades de frutas y desechan como residuos sus cortezas, las cuales pueden ser empleadas como materia prima para la extracción de aceites esenciales. Según el Instituto Nacional de Estadística de Venezuela para el año 2010 (Anuario de Comercio Exterior, 2010), el país importó 347.497 kilos de aceites esenciales de cítricos, con un costo de 1.199.826 dólares, siendo los países de origen: Brasil, Estados Unidos, Argentina, España, Irlanda, Reino Unido, Alemania, Francia, México, Bélgica y Puerto Rico. Durante ese año, los aceites esenciales de cítricos de mayor demanda fueron los de limón, naranja, lima, mandarina y toronja. De esta manera, el obtener aceites esenciales venezolanos el país ampliaría la productividad del sector industrial, se obtendría un significativo ahorro de divisas por concepto de importación de estos productos y se aportaría al ambiente una menor carga de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).

En este trabajo se realizó la caracterización química del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) cultivada en el municipio Mara del estado Zulia, empleando las técnicas de cromatografía de gas con detector fotométrico de llama (GC-FID) y cromatografía de gas-espectrometría de masa (GC-MS).

amount of money in the importing of industrial materials derived from these fruits, including the essential oils, which national demand is unsatisfied (Amr, 2007).

The processing industries of citric juices in Venezuela, use high quantities of fruits and exclude their corteces, which can be employed as raw matter for the extraction of essential oils. According to the National Institute of Statistics of Venezuela, in 2010 (Anuario de Comercio Exterior, 2010), the country imported 347.497 kilograms of essential oils of citric, with an expense of 1.199.826 dollars, being the countries of origin: Brazil, United States, Argentina, Spain, Ireland, United Kingdom, Germany, France, Mexico, Belgium and Puerto Rico. During that year, the essential oils of citric with higher demand were lemon, orange, lime, tangerine and grapefruits. Likewise, while obtaining Venezuelan essential oils, the country will widen its productivity of the industrial area, also, a significant exchange saving will happen by concept of importing of these products, and a lower Bio-chemical Demand charge of Oxygen would be provided (DBO).

During this research, the chemical characterization of essential oil of grapefruits (*Citrus paradisi* L.) was carried out, in Mara county, Zulia state, using the gas chromatography technique with flame photometric detector (GC-FID) and gas chromatography spectrometry of mass (GC-MS).

Materiales y métodos

Material Vegetal

Los frutos de toronja (*Citrus paradisi* L.) de coloración roja y blanca, fueron tomados en forma aleatoria, de plantas sanas, cultivados en el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola del Zulia (CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULIA), ubicado en el Km. 27 vía a San Rafael del Mojan- municipio Mara del estado Zulia y correspondiente a la cosecha de octubre 2009. Se recolectaron 180 kg de frutos en completo estado de madurez comercial, los cuales fueron trasladados al laboratorio en sacos. Los frutos cítricos fueron pelados manualmente utilizando un cuchillo de hoja fina de acero inoxidable; el flavedo fue cortado en tiras finas de aproximadamente 4 cm² almacenándose en bolsas con cierre hermético donde se mantuvieron bajo refrigeración en una cava (Guanche) a 4°C hasta su posterior análisis.

Extracción del aceite esencial

La extracción del aceite esencial a partir de los flavedos de la toronja, fue realizado por el método de Hidrodestilación (Acosta *et al.*, 2003; Albado *et al.*, 2001; Alzamora *et al.*, 2001; Gende *et al.*, 2007, Poiana *et al.*, 1998). La destilación se llevó a cabo generando vapor aproximadamente entre 70 y 90°C, por un período de 4 horas en un balón de base redonda de 2 L, el cual contenía en su interior 350 g de flavedos y agua hasta cubrir la muestra. El aceite volátil condensado fue decantado del extracto; para la separación de la emulsión del aceite esencial se llevó a temperatura de -15°C en un freezer (Electrolux) en un tiempo

Materials and methods

Vegetal material

The fruits of the grapefruit (*Citrus paradisi* L.) with red and white coloring and from healthy plants were taken at random, these were cropped in the Socialist Center of Research and Fruit and Bee-keeping Development of Zulia (CESID-Frutícola and Apícola-CORPOZULIA), located on the Km. 27, on the way to San Rafael del Mojan, Mara county, Zulia state, corresponding to the 2009 harvest. 180 kg of commercially ripened fruits were collected, and were transported to the laboratory in bags. The citric fruits were peeled manually using a stainless steel fine knife; the flavedo was cut in fine strips of approximately 4 cm² storing in bags with hermetic sealing and kept in a freezer (Guanche) at 4°C until its posterior analysis.

Extraction of the essential oil

The extraction of the essential oil after the grapefruit strips was done using the Hydro-distillation method (Acosta *et al.*, 2003; Albado *et al.*, 2001; Alzamora *et al.*, 2001; Gende *et al.*, 2007, Poiana *et al.*, 1998). The distillation was carried out generating vapor approximately from 70 to 90°C, for 4 hours in a rounded-base balloon of 2 L, which had on its interior 350 g of flavedos and water until covering the sample. The condensed volatile water was separated off the extract; for the separation of the essential oil emulsion, it was taken to a temperature of -15°C in a freezer (Electrolux) for 48 hours, leaving the oil in the superior area of the amber test tube and the frozen water in the inferior area. Subsequently, the

de 48 horas, quedando el aceite en la parte superior del tubo de ensayo color ámbar y el agua congelada en la parte inferior. Posteriormente, se envasó herméticamente el aceite esencial y se almacenó por debajo de 0°C en una nevera (Admiral) hasta su posterior análisis. Es importante destacar que luego de cada extracción, el sistema de destilación fue lavado con suficiente agua destilada con la finalidad de evitar cualquier contaminación cruzada en la siguiente extracción.

Propiedades físicas del aceite esencial de toronja

Se determinó la densidad relativa, el índice de refracción y la actividad óptica del aceite esencial de toronja, según lo establecido en la norma AOAC 19.078, 19.079 y 19.080 respectivamente. (AOAC, 2000).

Análisis cromatográfico del aceite esencial de toronja

Cromatografía de gases (GC-FID)

El análisis por Cromatografía de gases del aceite esencial, se realizó en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer- Auto System (U.S.A.) equipado con un detector de ionización a la llama (GC-FID). Se empleó una columna capilar de 5% fenil-95% metil polisiloxano, HP- 5 (J&W Scientific, California, USA), de 0,25 µm espesor, de 60m de longitud y de 0,25mm de diámetro interno. La temperatura del horno fue de 60°C, luego se incrementó a razón de 4°C min⁻¹ hasta 260°C, donde se mantuvo por 20 minutos. La temperatura del inyector y detector fueron de 200°C y 250°C, respectivamente. El gas de arrastre fue Helio (AGA-GAS, Venezuela, 99,995% de pureza) a un flujo de 1 mL min⁻¹ El volumen

essential oil was stored hermetically and kept in a refrigerator of 0°C (Admiral) until its analysis. It is important to mention that after each extraction, the distillation system was the washing with enough distilled water, with the aim of avoiding any crossed contamination in the following extraction.

Physical properties of essential oil of grapefruit

The relative density, the refraction index and the optic activity of the essential oil of grapefruit were determined, according to the established on the norm AOAC 19.078, 19.079 and 19.080 respectively. (AOAC, 2000).

Chromatographic analysis of the essential oil of grapefruit

Gases chromatography (GS-FID)

The analysis done by gas chromatography of the essential oil was carried out using a gas chromatograph of Perkin Elmer – Auto System (USA) equipped by an ionization detector of the flame (GC-FID). A capillary column was used of 5% phenyl-95% methyl polysiloxane, HP-5 (J&W Scientific, California, USA), with 0.25 µm thickness and 60m of longitude and 0.25mm of internal diameter. The oven temperature was of 60°C, later, the reason increased at 4°C min⁻¹ until 260°C, were kept for 20 min. The temperature of the injector and detector were of 200°C and 250°C respectively. The carrier gas was Helium (AGA-GAS, Venezuela, 99,995% of pureness) at a flow of 1 mL min⁻¹. The injection volume was of 1 µL employing a 1:10 split. The

de inyección fue de 1 μL empleando un split de 1:10. Los índices de Kovats fueron determinados mediante una serie de n- alcanos de C_8 - C_{24} y comparados con los valores reportados en la literatura (Nist, 1997; McLafferty, 1994; Adams, 2007). Todos los resultados son promedio de tres corridas cromatográficas. (Ramos *et al.*, 2011).

Cromatografía de gas – espectrometría de masa

Para la separación cromatográfica por GC-MS se empleó un cromatógrafo de gas Hewlett Packard modelo HP 6890 series con una interfase a un detector de masa selectivo HP 5973 con una columna capilar HP-5 (J&W Scientific, California, USA), 5% fenil-95%metil polisiloxano de 30 m de longitud y 0,2 mm de diámetro interno, con un espesor de película de 0,25 μm . Las muestras fueron preparadas diluyendo 20 μL en 1 mL de éter dietílico (grado HPLC), posteriormente. Se inyectó 1,0 μL de la solución, para ello se usó un split de 1:50. El programa de temperatura fue el mismo descrito en el análisis de GC- FID. El programa tuvo una duración de 50 minutos. La temperatura de interfase cromatógrafo-espectrómetro se mantuvo a 280°C, la temperatura de la cámara de ionización a 230°C y el cuadrupolo a 150°C. El análisis se realizó a 70 eV, a una velocidad de 2,2 espectros seg^{-1} sobre un rango de masas de 40 a 500 amu. Como gas portador se empleó helio a una velocidad de flujo de 1,0 mL min^{-1} . Los espectros de masa fueron identificados basándose en la librería McLafferty, (1994), seguido de comparación con otras librerías reportadas en la literatura (Nist, 1997; Adams,

Kovats indexes were determined using a series of n-alkanes of C_8 - C_{24} and compared to the values reported in the literature (Nist, 1997; McLafferty, 1994; Adams, 2007). All the results are the average of three chromatographic carriers (Ramos *et al.*, 2011).

Gas chromatography – mass spectrometry

For the chromatography division with GC-MS, a gas chromatograph of Hewlett Packard, model HP 6890 was used, with an interface and a selective mass detector, HP 5973 with a capillary column HP-5 (J&W Scientific, California, USA), 5% phenyl-95% methyl polysiloxane of 30m of longitude and 0.2 mm of internal diameter, and a film thickness of 0.25 μm . The samples were prepared diluting 20 μL in 1 mL of diethyl ether (HPLC degree), subsequently, 1.0 μL of the solution was injected, for this, a 1:50 split was used. The temperature program was the same described in the GC-FID analysis. The program lasted 50 minutes. The interface-chromatograph-spectrometer temperature kept at 280°C, the ionization chamber temperature kept at 230°C and the quadrupole at 150°C. The analysis was done at 70 eV, at a velocity of 2.2 spectrum sec^{-1} on a mass range from 40 to 500 amu. The mass spectrum was identified based on the literature of McLafferty (1994), and other researchers found (Nist, 1997; Adams, 2007), as well as the calculated Kovats indexes. All the results are the average of three chromatographic carriers (Ramos *et al.*, 2011).

2007), así como con los índices de Kovats calculados. Todos los resultados son promedio de tres corridas cromatográficas. (Ramos *et al.*, 2011).

Resultados y discusión

Rendimiento

A partir de 180 kg de frutos se obtuvo 25,8 kg de corteza lo cual representa un 11% kg flavedo kg^{-1} fruto. Del destilado de 25,8 kg de flavedos se obtuvo 53,5 mL de aceite esencial, estos valores indican un rendimiento de 2,07 mL de aceite esencial kg^{-1} de corteza, que representa un rendimiento final de 0,30 mL de aceite esencial kg^{-1} de fruto. Dicha proporción se encuentra adecuada para los procesos industriales de extracción del aceite esencial de toronja, cuyos rendimientos obtenidos por el método de hidrodestilación oscilan entre 0,01 hasta 0,50 mL aceite kg^{-1} fruto (Güenther, 1973). El rendimiento del aceite esencial en este estudio es superior al reportado por Poiana *et al.* (1998), quienes también utilizaron la técnica de extracción del aceite esencial por hidrodestilación (1,40 mL aceite kg^{-1} corteza), mientras que el valor de 1,1% g de aceite esencial 100 g^{-1} de corteza reportado por Bousbia *et al.* (2009) empleando la técnica de hidrodifusión con microondas y gravedad fue superior al obtenido en este trabajo (0,18 g de aceite esencial 100 g^{-1} de corteza).

Características físicas del aceite esencial de toronja

En el cuadro 1 se muestra una comparación entre las propiedades físicas del aceite esencial de toronja obtenido en este estudio y las presentadas por otros autores.

Results and discussion

Yield

From 180 kg of fruits, 25.8 kg of cortex was obtained, which represents 11% of the flavedo kg^{-1} fruit. With the distillation of 25.8 kg of flavedos, 53.5 mL of essential oil was obtained; these values indicate a yield of 2.07 mL of essential oil kg^{-1} which represent a final yield of 0.30 mL of essential oil kg^{-1} of the fruit. Such proportion is adequate for the extracting industrial processes of the essential oil of the grapefruit, which yields obtained by the hydro-distillation method oscillate from 0.01 to 0.50 mL oil kg^{-1} fruit (Güenther, 1973). The yield of the essential oil in this research is superior than the reported by Poiana *et al.*, (1998), who also used the extraction technique of essential oil by hydro-distillation (1.40 mL oil kg^{-1} cortex), while the value of 1.1% g of essential oil 100 g^{-1} of the cortex reported by Bousbia *et al.* (2009) using the hydro-diffusion technique with microwave and gravity, was superior than the one obtained on this research (0.18g of essential oil 100 g^{-1} of the cortex).

Physical characteristics of the essential oil of grapefruit

In table 1 is shown a comparison among the physical properties of the essential oil of grapefruit obtained in this research and the ones presented by other authors.

The relative density value (0.8539) of the essential oil of grapefruit determined at 25°C was slightly superior to the value reported by other authors (Pino *et al.* (1999) and Viuda *et al.* (2008) for the essential oil of the same fruit, and is on the rank

Cuadro 1. Comparación de las propiedades físicas del aceite esencial de toronja obtenido respecto a investigaciones realizadas por otros autores.

Table 1. Comparison of the physical properties of the essential oil of the grapefruit obtained in relation to researches carried out by other authors.

Propiedad	Valor obtenido ^a	DSR	Pino <i>et al.</i> 1999 (Destilado)	Kesterton y Macduff. 1971 (Destilado)	Guenther 1973 (Destilado)	Viuda <i>et al.</i> 2008 (Prensado)
Densidad a 25°C	0,8539	0,0016	0,8433	0,8415 - 0,8539	0,858	0,8500
Índice de Refracción a 25°C	1,4690	0,0001	1,4692	1,4714 - 1,4746	1,4755	1,4700
Actividad óptica	+93	0,231	+94	+91° 50' - 96° 50'	+93° 40'	-

^aTodos los valores obtenidos en este estudio son promedio de tres mediciones consecutivas. DSR: Desviación estándar relativa.

El valor de densidad relativa (0,8539) del aceite esencial de toronja determinado a 25°C fue ligeramente superior al valor reportado por otros autores (Pino *et al.* (1999), y Viuda *et al.* (2008)) para el aceite esencial de este mismo fruto, y se encuentra dentro del rango establecido por Kesterton y Macduff. (1971) e inferior al valor reportado por Günther (1973). Valores de densidad inferiores a 0,9 e índices de refracción cercanos a 1,47 tienen un alto contenido de terpenos, (Kesterton y Macduff, 1971), lo que se comprobó en los análisis cromatográficos realizados en este trabajo.

El índice de refracción fue similar al encontrado por Pino *et al.* (1999), pero inferior al rango mostrado por Kesterton y Macduff. (1971), Günther (1973) y Viuda *et al.* (2008).

La actividad óptica del aceite esencial de toronja fue de +93. Dicha actividad se debe al contenido de terpenos, principalmente por el limoneno que es el más abundante, debido a que éstos poseen mayor actividad óptica y dextrógira, en comparación con los componentes oxigenados donde es nula y a los sesquiterpenos donde suele ser levógira (Weast, 2010).

Análisis cromatográficos

En el cuadro 2 se presenta el promedio de la composición en porcentaje, expresada como componentes volátiles del aceite esencial de toronja. Se identificaron 50 componentes: 8 monoterpenos y 11 sesquiterpenos que en conjunto representan la fracción hidrocarbonada y conforman un 81% del aceite esencial; 7 aldehídos, 19 alcoholes, 2 cetonas y otros compuestos oxigenados que constituyen la fracción oxigenada y en conjunto representan

established by Kesterton and Macduff (1971) and inferior to the value reported by Günther (1973). Values with inferior densities at 0.9, and refraction indexes near 1.47, have a high content of terpenes (Kesterton and Macduff, 1971), which was proved in the chromatographic analyses done in the current research.

The refraction index was similar to the one found by Pino *et al.* (1999), but inferior to the rank showed by Kesterton and Macduff. (1971), Günther (1973) and Viuda *et al.* (2008).

The optic activity of the essential oil of the grapefruit was of +93. Such activity is due to the terpene content, mainly because of the limonene, which is the most abundant, since these have higher optic activity and right rotation, compared to the oxygenated components where the activity is null, and in the sesquiterpenes the activity normally has a left rotation (Weast, 2010).

Chromatographic analysis

In table 2 is presented the average of the composition in percentage, expressed as volatile components of the essential oil of the grapefruit. 50 components: 8 monoterpenes and 11 sesquiterpenes were identified, which in a whole represent the hydrocarbon fraction and form 81% of the essential oil; 7 aldehydes, 19 alcohols, 2 ketones and other oxygenated compounds that constitute the oxygenated fraction and in a whole, represent 14.99% of the essential oil. The components of the oil were identified by comparison with the retention time of the patterns and with the masses spectrums registered in the bibliography (Nist, 1997; McLafferty,

Cuadro 2. Componentes volátiles del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.).
Table 2. Volatile components of the essential oil of grapefruit (*Citrus paradisi* L.).

Pico	Compuesto	t _r	% área	DSR	IK _{calc}	IK _{tab}
Monoterpenos						
2	α -pineno	5,178	1,060	0,025	941	932
3	sabineno	6,051	0,470	0,133	979	969
4	mirreno	6,444	4,000	0,029	994	988
6	limoneno	7,833	70,040	0,078	1049	1024
7	trans- β -ocimeno	8,027	0,220	0,064	1056	1044
8	γ -Terpineno	8,331	0,120	0,017	1067	1054
12	(E)-4,8-dimetil-1,3,7 nonatrieno	9,964	0,090	0,036	1122	
15	E-limoneno-1,2-epóxido	10,665	0,070	0,253	1145	1134
	Subtotal (% área)		76,07			
Aldehídos						
5	n- octanal	6,739	2,480	0,013	1006	998
11	nonanal	9,601	0,220	0,214	1109	1100
16	citronellal	11,104	0,190	0,498	1158	1148
21	decanal	12,775	0,91	0,075	1207	1201
25	neral	13,941	0,67	0,012	1249	1235
28	geranial	14,899	1,44	0,026	1281	1264
29	perillal aldehído	15,025	0,41	0,487	1285	1269
	Subtotal (% área)		6,32			

t_r: tiempo de retención, DSR: Desviación estándar relativa. La composición del aceite esencial fue determinada por comparación de los espectros de masas de cada componente con las bases de datos, McLafferty, (1994), Nist (1997) y Adams, (2007) e índice de Kovats calculado (IK_{calc}). El porcentaje de área fue el promedio de tres corridas cromatográficas.

Cuadro 2. Componentes volátiles del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) Continuación.
Table 2. Volatile components of the essential oil of grapefruit (*Citrus paradisi* L.) Continuation.

Pico	Compuesto	t_r	% área	DSR	IK _{calc}	IK _{tab}
Alcoholes						
1	cis-3-hexenol	3,734	0,080	0,503	855	850
9	n-octanol	8,635	1,240	0,103	1078	1063
10	linalool	9,496	2,070	0,018	1106	1095
13	trans-p-2,8-menthadien-1-ol	10,125	0,170	0,017	1127	1119
14	cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	10,572	0,110	0,048	1142	1133
17	nonanol	11,674	0,160	0,016	1175	1165
18	terpineol-4	11,910	0,370	0,014	1181	1174
19	α -terpineol	12,353	1,38	0,029	1194	1186
23	trans-carveol	13,227	0,37	0,078	1224	1215
24	nerol	13,514	0,47	0,064	1234	1227
27	geraniol	14,358	0,44	0,017	1263	1249
30	limonen-10-ol	15,519	0,09	0,036	1301	1288
31	perilla alcohol	15,798	0,13	0,056	1310	1294
44	elemol	23,505	0,19	0,253	1552	1548
45	nerolidol	23,894	0,11	0,215	1564	1561
47	γ -eudesmol	25,882	0,08	0,023	1632	1630
48	α -cadinol	26,169	0,11	0,025	1644	1652
49	α -eudesmol	26,511	0,16	0,650	1659	1652
50	ledol	26,815	0,04	0,012	1601	1602
	Subtotal (% área)		7,77			

t_r : tiempo de retención, DSR: Desviación estándar relativa. La composición del aceite esencial fue determinada por comparación de los espectros de masas de cada componente con las bases de datos, McLafferty, (1994), Nist (1997) y Adams, (2007) e índice de Kovats calculado (IK_{ca}). El porcentaje de área fue el promedio de tres corridas cromatográficas.

Cuadro 2. Componentes volátiles del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) Continuation.Table 2. Volatile components of the essential oil of grapefruit (*Citrus paradisi* L.) Continuation.

Pico	Compuesto	t _r	% área	DSR	IK _{calc}	IK _{tab}
Cetonas y acetatos						
20	dihidrocarvona	12,539	0,16	0,231	1199	1198
22	n- octil acetato	12,957	0,17	0,421	1214	1210
26	carvona	14,046	0,21	0,011	1253	1239
33	neryl acetato	17,507	0,07	0,027	1359	1379
35	geranyl acetato	18,461	0,29	0,119	1385	1379
	Subtotal (% área)		0,90			
	Total de la Fracción Oxigenada (Aldehídos, Alcoholes y Ésteres) por Destilado. (% área)		14,99			

t_r: tiempo de retención, DSR: Desviación estándar relativa. La composición del aceite esencial fue determinada por comparación de los espectros de masas de cada componente con las bases de datos, McLafferty, (1994), Nist (1997) y Adams, (2007) e índice de Kovats calculado (IK_{calc}). El porcentaje de área fue el promedio de tres corridas cromatográficas.

Cuadro 2. Componentes volátiles del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) Continuación.
Table 2. Volatile components of the essential oil of grapefruit (*Citrus paradisi* L.) Continuation.

Pico	Compuesto	t_r	% área	DSR	IK _{calc}	IK _{tab}
Sesquiterpenos						
32	α -cubebeno	17,414	0,05	0,098	1357	1345
34	α -copaeno	18,263	0,56	0,287	1380	1374
36	β -cubebeno	18,710	0,42	0,124	1391	1387
37	(E)-cariofileno	19,643	1,64	0,315	1422	1417
38	α -humuleno	20,673	0,30	0,298	1459	1452
39	germacreno d	21,509	0,45	0,153	1488	1484
40	biciclogermacreno	21,977	0,27	0,095	1503	1500
41	α -muuroleno	22,070	0,08	0,076	1506	1500
42	germacreno A	22,235	0,10	0,089	1512	1508
43	δ -cadineno	22,763	0,97	0,153	1529	1522
46	óxido de cariofileno	24,514	0,08	0,659	1582	1582
	Subtotal (% área)		4,92			
	Total del destilado (% área)		95,98			

t_r : tiempo de retención, DSR: Desviación estándar relativa. La composición del aceite esencial fue determinada por comparación de los espectros de masas de cada componente con las bases de datos, McLafferty, (1994), Nist (1997) y Adams, (2007) e índice de Kovats calculado (IK_{calc}). El porcentaje de área fue el promedio de tres corridas cromatográficas.

un 14,99% del aceite esencial. Los componentes del aceite fueron identificados por comparación con el tiempo de retención de los patrones y con los espectros de masas registrados en las librerías, (Nist, 1997; McLafferty, 1994; Adams, 2007), empleando los tiempos de retención, IK (índices de Kovats). El 95,98% de los compuestos presentes en el aceite esencial de toronja fueron identificados.

En el aceite estudiado, la fracción monoterpénica es la más abundante, representando el 76,07%. El limoneno es el monoterpene presente en mayor proporción, para este compuesto, se obtuvo un 70,04%, encontrándose ligeramente inferior a los valores reportados (entre 76 y 96%) para aceites esenciales de cítricos (Kirbaslar *et al.*, 2006; Espina *et al.*, 2011). Entre los monoterpenos detectados en mayor proporción que le siguen al limoneno son: mircenol con 4,00%, el cual se encuentra dentro de lo reportado por la literatura para aceites esenciales de cítricos (1,29 -6,9%) (Kirbaslar *et al.*, 2006), α pineno con 1,60%, seguido de sabineno y trans- β -ocimeno. El contenido total de la fracción monoterpénica fue inferior a los valores reportados por Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.* (1999) y Bousbia *et al.* (2009) para el aceite esencial de toronja.

La fracción oxigenada fue de 14,99%, siendo superior a los valores encontrados por Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.* (1999) y Bousbia *et al.* (2009). Los alcoholes constituyen la porción mayoritaria de esta fracción, debido a que el método empleado para la extracción del aceite fue hidrodestilación, lo que hace que se obtenga una alta concentración de los

1994; Adams, 2007), employing the retention times, IK (Kovats indexes). 95.98% of the compounds present in the essential oil of grapefruit were identified.

In the studied oil, the monoterpene fraction is the most abundant, representing 76.07%. The limonene is the monoterpene present in a higher proportion, for this compound, was obtained 70.04%, being slightly inferior to the values reported (from 76 to 96%) for essential oils of citric (Kirbaslar *et al.*, 2006; Espina *et al.*, 2011). Among the monoterpenes detected in a higher proportion, followed by limonene are: myrcene with 4.00% which is the rank reported in the literature for essential oils of citric (1.29 – 6.9%) (Kirbaslar *et al.*, 2006), α pinene with 1.60% followed by sabinene and trans- β -ocimene. The total content of the monoterpene fraction was inferior to the values reported by Poiana *et al.* (1998) Pino *et al.* (1999) and Bousbia *et al.* (2009) for the essential oil of grapefruit.

The oxygenated fraction was of 14.99%, being superior to the values found by Poiana *et al.* (1998) Pino *et al.* (1999) and Bousbia *et al.* (2009). The alcohols constitute the highest portion of this fraction, since the method employed for the extraction of oil was the hydro distillation, which causes a high concentration of these, which might be due to the addition of the water molecules to the double links of some monoterpenes (Verzera *et al.*, 1991). The alcohol found in higher proportion was linalool (2.07%), which is superior to the content reported by Poiana *et al.* (1998), and Bousbia *et al.* (2009), with 0.16 and 0.17%

mismos, lo cual puede ser debido, a la adición de moléculas de agua a los dobles enlaces de algunos monoterpenos (Verzera *et al.* 1991). El alcohol encontrado en mayor proporción fue el linalool (2,07%), el cual es superior al contenido reportado por Poiana *et al.* (1998), y Bousbia *et al.* (2009), con un 0,16 y 0,17% respectivamente, y se encuentra dentro del rango establecido por Kirbaslar *et al.* (2006) para aceites esenciales de cítricos. Es importante destacar que compuestos como linalool, carvacrol y thymol han sido reportados como principales constituyentes que exhiben propiedades antibacterianas (Burt, 2004) en diferentes tipos de alimentos.

Los aldehídos representan el 6,32% del aceite esencial de toronja. El aldehído que se encontró en mayor proporción fue n-octanal (2,48%). En general, los aldehídos representan un parámetro importante para establecer el valor del aceite, y por tanto conllevan a una referencia de calidad (Dugo, 1994). En general, los aldehídos son muy importantes porque contribuyen a la fragancia y al aroma característico de los aceites esenciales de cítricos (Bauer *et al.*, 2007). El contenido de aldehídos encontrado en este estudio es similar al reportado por otros autores para este mismo aceite esencial (Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.* (1999), Kirbaslar *et al.* (2006); Bousbia *et al.* (2009) y Espina *et al.* (2011)).

Las cetonas y acetatos se encuentran con un porcentaje de 0,90% siendo superior al reportado por Poiana *et al.* (1998); Pino *et al.* (1999) y Bousbia *et al.* (2009), con 0,24, 0,20 y 0,01%, respectivamente, se obtuvo una mayor proporción de acetato de geranilo

respectively, and inside the rank established by Kirbaslar *et al.* (2006) for essential oils of citric. It is important to mention that compounds such as linalool, carvacrol and thymol have been reported as main constituents that exhibit the antibacterial properties (Burt, 2004) in different types of food.

Aldehydes represent 6.32% of the essential oil of grapefruit. The aldehyde found in a higher proportion was n-octane (2.48%). In general, aldehydes represent an important parameter to establish the value of the oil; therefore, they imply a reference of quality (Dugo, 1994). Normally, aldehydes are very important because these constitute the fragrance and aroma, which is characteristic of the essential oils of citric (Bauer *et al.*, 2007). The aldehydes content found on this research is similar to the reported by other authors for the same essential oil (Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.*, (1999), Kirbaslar *et al.* (2006); Bousbia *et al.* (2009) and Espina *et al.* (2011)).

Ketones and acetates have a percentage of 0.90%, superior to the reported by Poiana *et al.* (1998) Pino *et al.* (1999) and Bousbia *et al.* (2009), with 0.24, 0.20 and 0.01%, respectively. With values from 0.05 – 0.13% was obtained a higher concentration of geranile acetate (0.29%) than the one reported by Kirbaslar *et al.*, 2006.

Sesquiterpenes represent the lowest proportion of components; 4.92% being the main component (E)-caryophyllene with 1.64%, which is superior to the value reported by Bousbia *et al.*, 2009, with a value of

(0,29%), que el reportado por Kirbaslar *et al.*, 2006, con valores entre 0,05 - 0,13%.

Los sesquiterpenos representan la menor proporción de componentes; 4,92% siendo el componente principal (E)- cariofileno con un 1,64%, el cual es superior al valor reportado por Bousbia *et al.*, 2009 con un valor de 0,17%. El resto de los sesquiterpenos identificados; δ - cadineno, α - copaeno, germacrene D, β - cubebeno, α - humeleno, bicyclogermacreno, germacrene A, α - muuroleno y α cubebeno han sido reportados por otros autores (Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.* (1999), Kirbaslar *et al.* (2006), Karioti *et al.* (2007) y Bousbia *et al.* (2009)), para el aceite esencial de toronja obtenido en otros países.

La composición del aceite esencial de toronja venezolano es similar a la composición del aceite esencial de toronja estudiado en otros países exceptuando algunas concentraciones, posiblemente debido a la influencia de una serie de variables tales como factores genéticos de la planta, método de recolección, método de extracción, condiciones agrícolas, temperaturas específicas de cada región y precisión en los análisis cromatográficos.

Conclusión

La composición química y los valores de las propiedades físicas del aceite esencial de toronja obtenido se encontraron acordes a los reportados en la literatura para este tipo de aceite; y guardan correspondencia con el método de extracción empleado y la composición del mismo (alto contenido de hidrocarburos monoterpénicos), por

0.17%. The rest of the identified sesquiterpenes: δ - cadinene, α - copaene, germacrene D, β - cubebene, α -humulene, bicyclogermacrene, germacrene A, α - muurolene and α cubebene have been reported by other authors (Poiana *et al.* (1998), Pino *et al.* (1999), Kirbaslar *et al.* (2006), Karioti *et al.* (2007) and Bousbia *et al.*, (2009)), for the essential oil of grapefruit obtained in other countries.

The composition of the essential oil of the Venezuelan grapefruit is similar to the composition of the essential oil of grapefruit studied in other countries, excepting some concentrations, probably due to the influence of a series of variables such as genetic factors of the plant, recollection method, extraction method, agriculture conditions, specific temperatures of each region, and accuracy in the chromatographic analysis.

Conclusion

The chemical composition and the values of the physical properties of the essential oil of the grapefruit obtained according to the ones reported in the literature for this type of oil, correspond to the extracting method employed and its composition (high content of monoterpénic hydrocarbons), therefore, its production in Venezuela is suggested.

Acknowledgement

The authors want to thank the Scientific and Humanistic Development Board of Universidad del Zulia (CONDES) for financing this

lo que se sugiere su producción en Venezuela.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de este proyecto, al Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola del Zulia (CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULIA) por el suministro del material vegetal y al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, por su colaboración en los análisis cromatográficos del aceite esencial.

Literatura citada

- Adams, R. 2007. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy. 4th ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. p. 1-499.
- Acosta, M., M. González, M. Araque, E. Velazco, N. Khouri, L. Rojas y A. Usubillaga. 2003. Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum L. var basilicum*, *O. basilicum L. var perpurensens*, *O. gratissimum L.*, y *O. tenuiflorum L.*, y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. *Rev. Fac. Farm.* (ULA) 45 (1): 19-24.
- Albado, E., G. Sáez y S. Grabiél. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Oraganum vulgare* (Orégano). Universidad Nacional Federico Villarreal 12 (1): 16-19.
- Alzamora, L., L. Morales, L. Armas y G. Fernández. 2001. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana *In Vitro* de los Aceites esenciales extraídos de
- project, also, to the Socialist Center of Research and Beekeeping Development of Zulia (CESID-Fruit and Beekeeping-CORPOZULIA) by supplying the vegetal matter, and the Research Institute of the Pharmacy and Bioanalysis Faculty of Universidad de los Andes, by their collaboration in the chromatographic analyses of the essential oil.

End of english version

algunas plantas aromáticas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Anales de la Facultad de Medicina 62 (2): 1-157.

Amr, E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res.* 21. 308- 323.

Anuario de Comercio Exterior. 2010. Instituto Nacional de Estadística. Tomo II. Importaciones. República Bolivariana de Venezuela. p. 404.

A.O.A.C. 2000. Association of Official Analytical Chemist. Official methods of Analysis. Arlington. V.A. 16th Edition. Washington. 1319p.

Bauer, K., D. Garbe y H. Surburg. 2007. Common fragrance and flavor materials. Wiley-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim (Germany). Fourth Edition. p. 11-16.

Boushia, N., M. Vian, M. Ferhat, B. Meklati y F. Chemat. 2009. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *J. Food. Eng.* 90: 409-413.

Burt, S. 2004. Essential Oils: their antibacterial properties and potential applications in foods –a review. *International J. Food Microbiol.* 94: 223-253.

- Dugo, G. 1994. The Composition of the Volatil Fraction of the Italian Citrus Essential Oils. *Perf Flavorist* 19: 29-51.
- Espina, L., M. Somolinos, S. Lorán, P. Conchello, D. García y R. Pagán. 2011. Chemical composition commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food control* 22: 896-902.
- Fisher, K. y C. Phillips. 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Sci. Tech.* 19:156-164.
- Gende, L., S. Fuselli, R. Fritz y M. Eguaras. 2007. Inhibición del crecimiento de *Paenibacillus larvae* SUBSP. *Larvae*. Frente al aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) y sus componentes. Revista del Departamento de Química. Departamento de Biología. Universidad Nacional Mar de Plata. Argentina 2 (1): 1 – 10.
- Günther, E. 1973. *The Essential Oils*. Vol. 1: History and origin in Plants Production Analysis. Krieger Publishing: New York, USA.
- Karioti, A., H. Skaltsa, A. Gbolade. 2007. Constituents of the distilled essential oils of citrus reticulate and *C. paradise* from Nigeria. *J.Essent. Oil Res.* 19: 520-522.
- Kesterton, L. y C. MacDuff. 1971. Florida Citrus oils. University of Florida, N° 452. Gainesville Florida Tech.
- Kirbaslar, S., I. Boz y F. Kirbaslar, 2006. Composition of Turkish lemon and grapefruit peel oils. *J.Essent. Oil Res.* 18: 525-543.
- McLafferty, FW. y DB. Stauffer. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edn. Mass spectrometry library search system benchtop/ PBM, version 3.10d. Palisade Co: Newfield.
- Nakatsu, T., A. Lupo, J. Chinn y R. Kang. 2000. Biological activity of essential oils and their constituents. Elsevier Science B.V. USA 21: 571-623.
- Nannapaneni, R., V. Chalova, P. Crandall, S. Ricke, M. Johnson y C.O' Bryan. 2009. Campylobacter and Arcobacter species sensitivity to commercial orange oil fraction. *Int. J. Food Microbiol.* 129: 43-49.
- Nist, 1997. National Institute of Standards Library. Perkin Elmer corporation: Norwalk, CT.
- Pino, J., A. Acevedo, J. Rabelo, C. González y J. Escandón. 1999. Chemical Composition of Distilled Grapefruit Oil. *J. Essent. Oil. Res.* 11 (1): 75-76.
- Poiana, M., V. Sicari y B. Mincione. 1998. Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction of grapefruit flavedo. *Flavour Fragr. J.*, 13: 125-130.
- Ramos, S., L. Rojas, M. Lucena, G. Meccia y A. Usbillaga. 2011. Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum majorana* L. Essential oil from Venezuelan Andes. *J. Essent. Oil. Res.* 23: 45-49.
- Verzera, A., A. Cotroneo, I. Stagno y M. Donato. 1991. On the Genuineness of Essential Oils. Part. XXX. Detection of Distilled Essential Oils added to Cold-Pressed Mandarin Essential Oils. *J. Essent. Oil. Res.* 4: 273-280.
- Viuda, M., R. Navajas, J. Fernández y J. Pérez. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control* 19: 1130-1138.
- Weast, R. 2010. Handbook of Chemistry and Physics. 90 th ed. CRC Press, USA. p. C-242-362.