

ESTUDIO DEL ACEITE ESENCIAL DE CLEMENTINAS: DIFERENCIACIÓN DE VARIEDADES SEGÚN EL PERFIL VOLÁTIL DE LA CORTEZA

Centro de Citricultura y Producción Vegetal.
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).
#Centro de Agrolingeniería (IVIA).
Moncada (Valencia).

(*e-mail: gonzalez_mde@gva.es)

INTRODUCCIÓN

Las mandarinas están clasificadas en más de 30 especies, de acuerdo con el sistema establecido por Tanaka (1961). Estas especies están compuestas por una o varias decenas de variedades, en ocasiones muy difíciles de diferenciar morfológicamente. Dado que la variabilidad química del aceite esencial de la corteza de los cítricos depende de factores genéticos, el estudio químico de dicho aceite ayuda a diferenciar estas variedades (Ruberto *et al.*, 1997; Merle *et al.*, 2004), aunque sólo se pueden comparar variedades cultivadas en condiciones similares (Fanciullino *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales están constituidos por compuestos volátiles y semivolátiles. Los compuestos más abundantes son los monoterpenos (Dugo *et al.*, 2002). Representan aproximadamente el 95 % de todo el aceite esencial,

siendo el limoneno el compuesto mayoritario (alrededor del 92% del total). Otros compuestos que forman parte de los aceites esenciales de cítricos son sesquiterpenos, aldehidos, ésteres, cetonas y alcoholes (Viuda-Martos *et al.*, 2009).

Los aceites esenciales se extraen a partir de material vegetal fresco, mediante presión en frío o utilizando la técnica de hidrodestilación empleando una trampa *Clevenger* (Fanciullino *et al.*, 2006). Una vez extraídos, la técnica de elección para su análisis es la cromatografía de gases acoplada a un detector de masas.

Se han descrito numerosas actividades biológicas de estos aceites, tales como antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes (O'Bryan *et al.*, 2008; Chutia *et al.*, 2009; Malhotra *et al.*, 2009). También se usan frecuentemente en la industria alimentaria y en cosmética y perfumería. En cuanto a su función fisiológica, los aceites esenciales tienen funciones de defensa contra patógenos y herbívoros, y de atracción de insectos polinizadores y dispersores de semillas (Carrera *et al.*, 2007).

El objetivo principal de este trabajo ha sido caracterizar la compo-

sición química de los aceites esenciales de cinco variedades de clementinas cultivadas en las mismas condiciones, con el fin de establecer diferencias entre ellas, puesto que morfológicamente son muy semejantes. Las variedades elegidas han sido: Clemenules, Clemenpons, Clemensol, Arrufatina y Nulessín, ésta última de reciente comercialización (Asíns *et al.*, 2002). La composición del aceite esencial de Nulessín y Clemensol no había sido descrita hasta el momento en bibliografía.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Vegetal: La fruta procedía de la colección de campo del banco de germoplasma de cítricos del IVIA, localizada en Moncada (Valencia). Todas las variedades estudiadas se encuentran en las mismas condiciones ambientales, de suelo y culturales. Se tomaron muestras de las cortezas de estas cinco variedades seleccionadas en cuatro fechas diferentes, que distaban tres semanas entre sí, lo cual permitió abarcar toda la campaña del año 2007 (octubre, noviembre y diciembre).

Obtención del aceite esencial. 50 gramos de corteza recién cortada de cada variedad se introduje-

ron en un matraz redondo de 250 mL. Los trozos eran aproximadamente de 4 cm², a los cuales se les había eliminado el albedo y procedían de cinco piezas de un peso medio de 80 gramos. Se añadió 150 mL de agua destilada a cada matraz, que se acopló a un sistema de destilación Clavenger (ver foto 1). Cada matraz se calentó a 60°C durante tres horas. Al cabo de este periodo se recogió la muestra del aceite, normalmente de 1 mL de volumen. Estas muestras se mantuvieron congeladas a -20 °C hasta el momento de su análisis. Se realizaron 60 análisis en total, puesto que se hicieron tres análisis diferentes para cada una de las cinco variedades estudiadas, en cuatro fechas diferentes.

Condiciones del Cromatógrafo de Gases acoplado al espectrómetro de masas. El análisis del aceite esencial de las diferentes variedades fue realizado en un equipo Thermo, Trace GC-Ultra, Polaris Q, equipado con un automuestreador (Tri Plus) y el software Xcalibur para la adquisición de datos. Las muestras fueron diluidas 1:50 con hexano, para lo cual a 10 µL de aceite se le adicionó 490 µL de hexano. Para el cromatógrafo de gases se utilizó una columna capilar de 30 m de longitud, 0.25 µm de diámetro interno y 0.25 mm de espesor de la fase estacionaria, estando ésta constituida por un 5 % de fenilpolisiloxano y un 95 % de dimetilpolisiloxano (Thermo, TR5 ms, USA). Se inyectó un microlitro de la muestra en modo split 1/100. El tiempo de análisis fue de 51 minutos, con una temperatura inicial del horno de 60 °C durante 5 minutos, luego se aumentó la temperatura 5 °C por minuto hasta alcanzar los 230 °C; manteniéndose así durante un minuto, para finalmente aumentar la temperatura 40 °C por minuto hasta alcanzar

los 300 °C, temperatura que se mantuvo durante los diez minutos finales del análisis. El flujo de Helio fue de 1 mL/min. En cuanto al detector de Masas, se trabajó en modo impacto electrónico, con 70 eV de energía de ionización y 225 °C de temperatura de la fuente de ionización, haciéndose un barrido entre las masas de 50 a 400 m/z.

Identificación de los compuestos. Los compuestos se consideraron correctamente identificados cuando su espectro de masas se correspondió al de la librería del cromatógrafo de gases-Masas (NIST) y cuando su tiempo de retención fue el mismo que el del patrón comercial, inyectado en las mismas condiciones cromatográficas usando soluciones de hexano de 10 mg/L. Los patrones fueron comprados a las empresas Sigma-Aldrich Química (Madrid) y Extrasynthese (Francia). Sólo cinco compuestos fueron exclusivamente identificados por la NIST: tujeno, sabineno, *trans-p*-menta-2,8-dienol, β-sinensal y α-sinensal, ya que son productos que no están disponibles comercialmente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos detectados en el aceite esencial de estas cinco variedades pertenecen en su mayoría al grupo de los terpenos tipo monoterpenos (mt; compuestos de 10 átomos de Carbono). También se identificaron diversos sesquiterpenos (sq, compuestos de 15 átomos de Carbono), así como algún compuesto no perteneciente al grupo de los terpenos, como es el caso del *trans*-2-hexenal, siempre detectado en trazas en todas las variedades y responsable del aroma a hierba fresca, los aldehidos octanal y decanal o el compuesto α-ionona, que pertenece al grupo de los norisoprenoides,

compuestos de trece átomos de carbono derivados de los carotenoides (ver Tabla 6). Estos compuestos, alrededor de cuarenta, ya habían sido identificados en su mayoría en trabajos previos de las variedades Clemenpons, Clemenules y Arrufatina (Lota *et al.*, 2001; Dugo *et al.*, 2002; Merle *et al.*, 2004).

El compuesto volátil mayoritario en todas las variedades fue el monoterpeno limoneno, que osciló entre el 94 y 90 % aproximadamente, como sucede generalmente en los aceites esenciales de cítricos (Dugo *et al.*, 2002). El resto de compuestos se detectaron en porcentajes muy pequeños, que iban desde el 3,69 % para el caso de sabineno en Arrufatina, hasta porcentajes inferiores al 0,1% en otros muchos compuestos (Tablas 1-5).

Aún así, a pesar de la existencia de diferencias cuantitativas en algunos de los compuestos volátiles detectados, no fue posible determinar por métodos analíticos sencillos si las variedades se diferenciaban entre sí, ya que la matriz de datos generada por los análisis químicos era excesivamente grande (21 variables X 60 casos). Fue necesario, por tanto, aplicar técnicas estadísticas multivariantes basadas en un Análisis de Componentes Principales (PCA). Las variables estudiadas corresponden a los 21 compuestos químicos más abundantes detectados durante los análisis (porcentajes superiores al 0,02 %). La variabilidad de los datos explicada por el PCA desarrollado es muy buena ya que alcanza el 81% para las tres primeras componentes principales. Entre los resultados obtenidos con el PCA, podemos resaltar los siguientes:

Tabla 1. Compuestos volátiles del aceite esencial de la variedad Clemenules, cuyo porcentaje ha sido superior o igual al 0,02 % del total de volátiles en todas las medidas tomadas.

CLEMENULES	FECHAS DE RECOLECCIÓN			
	Compuestos (%)	3-10-2007	16-10-2007	30-10-2007
α-pineno	0,45	0,45	0,44	0,44
sabineno*	0,86	1,11	1,15	0,68
β-pineno	0,04	0,05	0,08	0,13
β-mirceno	0,93	0,88	0,86	0,89
α-felandreno	0,20	0,23	0,28	-
3-careno	0,04	0,02	0,03	-
α-terpineno	0,04	0,05	0,06	0,03
Limoneno	95,39	94,78	94,39	91,94
β-trans-ocimeno	0,07	0,07	0,05	0,10
γ-terpineno	0,06	0,08	0,15	0,10
terpinoleno	0,04	0,05	0,06	0,06
Linalool	0,68	0,74	0,75	3,25
trans-p-menta-2,8-dienol*	0,07	0,11	0,14	0,04
cis-limoneno óxido	0,05	0,09	0,11	0,11
citronellal	0,02	0,02	0,03	-
terpinen-4-ol	0,15	0,20	0,24	0,10
α-terpineol	0,14	0,13	0,20	0,43
mirtenal	0,05	0,07	0,08	0,03
decanal	0,09	0,10	0,11	0,11
trans-carveol	0,11	0,17	0,19	0,06
L-carveol	0,04	0,08	0,08	0,03
geranial	-	-	0,04	0,05
+carvone	0,12	0,20	0,24	0,08
neral	-	-	0,04	0,06
Desconocido 1	0,03	0,05	0,06	-
α-copaeno	0,04	0,03	0,02	0,04
cis-nerolidol	0,06	0,04	0,03	0,05
α-sinensal*	0,12	0,07	0,05	0,05

Tabla 3. Compuestos volátiles del aceite esencial de la variedad Clemenpons, cuyo porcentaje ha sido superior o igual al 0,02 % del total de volátiles en todas las medidas tomadas.

CLEMENPONS	FECHAS DE RECOLECCIÓN			
	Compuestos (%)	3-10-2007	16-10-2007	30-10-2007
α-pineno	0,45	0,48	0,52	0,42
sabineno*	1,42	1,28	0,56	0,86
β-pineno	0,06	0,05	0,04	0,04
β-mirceno	0,87	0,93	0,74	0,86
α-felandreno	0,20	0,19	0,19	0,19
3-careno	0,04	0,04	0,05	0,06
α-terpineno	0,06	0,04	0,05	0,04
limoneno	94,04	94,71	95,19	94,52
β-trans-ocimeno	0,07	0,08	0,07	0,08
γ-terpineno	0,11	0,07	0,11	0,15
terpinoleno	0,06	0,04	0,11	0,12
linalool	0,82	0,67	0,90	0,94
trans-p-menta-2,8-dienol*	0,12	0,10	0,07	0,08
cis-limoneno óxido	0,09	0,08	0,06	0,07
citronellal	-	-	0,03	0,03
terpinen-4-ol	0,34	0,17	0,28	0,22
α-terpineol	0,18	0,14	0,20	0,25
mirtenal	0,10	0,06	0,05	0,06
decanal	0,10	0,10	0,10	0,13
trans-carveol	0,19	0,15	0,10	0,13
L-carveol	0,09	0,07	0,06	0,05
geranial	-	-	-	0,11
+carvone	0,23	0,18	0,12	0,19
neral	-	-	-	0,14
Desconocido 1	0,07	0,06	-	0,03
α-copaeno	0,03	0,04	0,05	0,03
cis-nerolidol	0,05	0,05	0,05	0,04
β-sinensal*	0,04	0,03	-	-
α-sinensal*	0,12	0,10	0,05	0,09

Tabla 2. Compuestos volátiles del aceite esencial de la variedad Clemensol, cuyo porcentaje ha sido superior o igual al 0,02 % del total de volátiles en todas las medidas tomadas.

CLEMENSOL	FECHAS DE RECOLECCIÓN			
	Compuestos (%)	3-10-2007	16-10-2007	30-10-2007
α-pineno	0,45	0,38	0,40	0,39
sabineno*	1,21	1,41	1,74	2,18
β-pineno	0,05	0,06	0,08	0,08
β-mirceno	0,90	0,83	0,73	0,68
α-felandreno	0,19	0,26	0,30	0,29
3-careno	0,03	0,06	-	-
α-terpineno	0,06	0,10	0,11	0,12
limoneno	94,46	92,63	89,98	90,49
β-trans-ocimeno	0,12	0,09	0,08	0,07
γ-terpineno	0,10	0,15	0,37	0,19
terpinoleno	0,07	0,10	0,18	0,18
linalool	0,75	1,31	1,46	1,52
trans-p-menta-2,8-dienol*	0,11	0,22	0,28	0,29
cis-limoneno óxido	0,08	0,16	0,21	0,23
terpinen-4-ol	0,24	0,44	0,62	0,51
α-terpineol	0,15	0,24	0,40	0,25
mirtenal	0,08	0,16	0,24	0,25
decanal	0,12	0,14	0,14	0,16
trans-carveol	0,15	0,32	0,51	0,47
L-carveol	0,07	0,15	0,22	0,20
geranial	-	-	0,28	0,04
+carvone	0,23	0,41	0,76	0,81
neral	-	-	0,33	-
Desconocido 1	0,05	0,09	0,14	0,23
α-copaeno	0,03	0,03	-	-
cis-nerolidol	0,05	0,04	0,05	0,06
α-sinensal*	0,07	0,10	0,08	0,03

Tabla 4. Compuestos volátiles del aceite esencial de la variedad Arrufatina, cuyo porcentaje ha sido superior o igual al 0,02 % del total de volátiles en todas las medidas tomadas.

ARRUFATINA	FECHAS DE RECOLECCIÓN			
	Compuestos (%)	3-10-2007	16-10-2007	30-10-2007
α-pineno	0,53	0,51	0,48	0,39
sabineno*	3,58	3,69	2,82	2,65
β-pineno	0,16	0,13	0,13	0,13
β-mirceno	1,22	0,97	0,85	0,66
α-felandreno	0,21	0,27	0,33	0,43
3-careno	0,08	0,08	0,06	0,08
α-terpineno	0,13	0,13	0,18	0,30
limoneno	91,10	91,22	90,10	89,22
β-trans-ocimeno	0,20	0,10	0,10	0,12
γ-terpineno	1,17	1,17	1,49	0,47
terpinoleno	0,11	0,07	0,14	0,12
linalool	0,69	0,84	1,1	1,60
trans-p-menta-2,8-dienol*	-	0,03	0,04	0,09
cis-limoneno óxido	-	-	-	-
citronellal	0,04	0,04	0,08	0,08
terpinen-4-ol	0,33	0,39	0,50	1,03
α-terpineol	0,23	0,25	0,43	0,53
mirtenal	-	-	-	-
decanal	0,09	0,12	0,15	0,21
trans-carveol	-	0,03	0,03	0,10
geranial	-	-	0,24	0,13
+carvone	-	0,02	-	0,11
neral	-	-	0,27	0,12
Desconocido 1	0,04	0,04	0,06	0,09
α-copaeno	-	-	0,03	0,03
cis-nerolidol	0,07	0,05	0,04	-
trans-nerolidol	0,30	-	-	0,23
α-sinensal*	0,15	0,14	0,11	0,08

- Principales contribuciones de las variables a la Primera Componente: terpinen-4-ol, decanal, terpinoleno y limoneno.

- Principales contribuciones de las variables a la Segunda Componente: γ -terpineno, sabineno, β -pineno y β -trans-ocimeno.

- Principales contribuciones de las variables a la Tercera Componente: β -mirceno, mirtenal, α -sinensal y L-carveol.

En la Figura 1 se muestra la proyección de las 21 variables estudiadas sobre las dos primeras componentes. Hay que tener en cuenta que una variable tiene más importancia a la hora de calcular una componente principal, cuanto mayor sea el valor que tome cuando se proyecte sobre el eje correspondiente. Variables próximas a los ejes de coordenadas indican que su contribución se limita, sobre todo, a una de las dos componentes principales, como es el caso del linalool para la primera componente o α -sinensal para la segunda.

La Figura 2 muestra la proyección de los 60 análisis realizados sobre las dos primeras componentes principales. A través de este gráfico es posible analizar si se observan diferencias entre los aceites esenciales de las distintas variedades estudiadas. En primer lugar, se puede apreciar que Clemenules, Clemenpons y Nulessín presentan muy poca variabilidad entre los análisis correspondientes ya que, como se observa en la Figura 2, están agrupadas en un área reducida del plano (ver también Tablas 1, 3, 5). Por el contrario, se observa mucha variabilidad en los análisis de las variedades Arrufatina y Clemensol. En el caso del primero, la falta de reproducibilidad se extiende a los

Tabla 5. Compuestos volátiles del aceite esencial de la variedad Nulessín, cuyo porcentaje ha sido superior o igual al 0,02 % del total de volátiles en todas las medidas tomadas.

NULESSIN Compuestos (%)	FECHAS DE RECOLECCIÓN			
	3-10-2007	16-10-2007	30-10-2007	3-11-2007
α -pineno	0,47	0,47	0,46	0,49
sabineno*	0,71	0,61	0,50	0,67
β -pineno	0,09	0,03	0,03	0,03
β -mirceno	1,07	0,97	0,92	0,98
α -felandreno	0,18	0,19	0,20	0,21
3-careno	0,04	0,05	0,04	0,02
α -terpineno	0,03	0,02	0,03	0,02
limoneno	94,93	96,33	95,16	96,26
β -trans-ocimeno	0,06	0,06	0,04	0,05
γ -terpineno	0,32	0,04	0,04	0,03
terpinoleno	0,04	0,03	0,05	0,02
linalool	0,56	0,45	0,48	0,52
trans-p-menta-2,8-dienol*	0,02	0,03	0,03	0,03
cis-limoneno oxido	-	0,03	0,03	0,03
citronellal	0,03	0,02	0,04	0,02
terpinen-4-ol	0,13	0,08	0,12	0,07
α -terpineol	0,25	0,10	0,21	0,09
mirtenal	-	0,02	0,02	0,02
decanal	0,08	0,10	0,10	0,10
trans-carveol	0,03	0,04	0,04	0,04
L-carveol	-	0,02	-	0,02
geranial	0,19	0,18	0,22	-
+carvone	0,03	0,04	0,05	0,06
neral	0,24	-	0,26	-
Desconocido 1	0,04	0,03	0,04	0,02
α -copaeno	0,04	0,04	0,03	0,03
cis-nerolidol	0,05	0,05	0,04	0,03
α -sinensal*	0,09	0,08	0,06	0,04

cuatro días en que se tomaron muestras (ver también Tabla 4); en el caso de la variedad Clemensol, se observa un agrupamiento de las muestras correspondiente al primer y segundo día y al tercer y cuarto día (ver también Tabla 2). Quizás esto sea debido a que el perfil volátil de las variedades Arrufatina y Clemensol no se mantiene constante a lo largo de la campaña, sino que va modificándose con el transcurso de la misma. Por lo tanto, respecto a la capacidad de discriminación entre las cinco variedades estudiadas, es claro que pueden hacerse tres agrupaciones distintas si se observa la Figura 2:

- Muestras correspondientes a la variedad Clemensol
- Muestras correspondientes a la variedad Arrufatina
- Muestras correspondientes a

las variedades Clemenules, Clemenpons y Nulessín.

Uno de los compuestos que más ayudó a la clasificación de estas variedades en tres grupos fue el compuesto mayoritario, limoneno, cuya contribución en la primera componente fue muy importante. Así se observó que Clemenules, Clemenpons y Nulessín presentaron valores de limoneno de alrededor del 94% a lo largo de toda la campaña, mientras que Clemensol presentó valores de limoneno que iban disminuyendo progresivamente a lo largo de la campaña, desde el 94% hasta el 90%. Por el contrario, Arrufatina presentaba en general valores más bajos que las otras variedades, alrededor del 90 % a lo largo de toda la campaña. Hasta el momento no hay descritos en bibliografía otros estudios que analicen la evolución de los aceites esenciales a

lo largo de la campaña citrícola, por lo que sería necesario realizar más análisis en otras campañas para comprobar que el comportamiento del limoneno que detectamos en el año 2007 se mantiene constante en diferentes campañas o depende de las condiciones climáticas y culturales de cada campaña.

En lo que respecta al resto de compuestos, en las variedades Clemenules y Nulessin a medida que avanzaba la campaña se apreció una disminución del porcentaje del sesquiterpeno α -sinensal, que constituye una de las principales contribuciones de la Tercera componente del PCA, mientras que en Clemenpons solo disminuyó de forma notable el porcentaje de sabineno, que constituye una de las principales contribuciones de la Segunda componente del PCA. En cuanto a los volátiles que aumentaron su porcentaje, en Clemenules se apreció que aumentaba β -pineno, γ -terpineno, terpinoleno, linalool y α -terpineol, mientras que el resto de compuestos no mostraba una clara tendencia a lo largo de la campaña. En la variedad Clemenpons los únicos compuestos que aumentaron su porcentaje con respecto al resto de volátiles fueron γ -terpineno y terpinoleno, que coincidían con algunos volátiles que aumentaban en la variedad Clemenules, mientras que el resto de compuestos no presentaron una tendencia clara a lo largo de la campaña.

Por otra parte, en la variedad Clemensol el compuesto cuyo porcentaje disminuyó a lo largo de la campaña, además del limoneno, fue el β -mircenol que constituye una de las principales contribuciones de la Tercera componente del PCA. Los compuestos que aumentaron su porcentaje fueron sabineno, terpinoleno, linalool, *trans*-p-menta-

Tabla 6. Tiempos de retención de los compuestos volátiles detectados al menos una vez en los aceites esenciales analizados, incluyendo trazas (% < 0,02).

Compuestos detectados	Tiempo retención	Variedades donde se han localizado
<i>trans</i> -2-hexenal	4,57	Todas (trazas)
tujeno* mt	6,83	1 (trazas)
α -pineno mt	7,07	Todas
camfeno mt	7,57	Todas (trazas)
sabineno* mt	8,41	Todas
β -pineno mt	8,55	Todas
β -mircenol mt	9,02	Todas
octanal	9,38	Todas (trazas)
α -felandreno mt	9,39	Todas
3-careno mt	9,64	Todas
α -terpineno mt	9,84	Todas
<i>p</i> -cimeno mt	10,12	Todas (trazas)
Limoneno mt	10,23	Todas
β -trans-ocimeno mt	10,93	Todas
γ -terpineno mt	11,30	Todas
terpinoleno mt	12,24	Todas
Linalool mt	12,59	Todas
<i>trans</i> -p-menta-2,8-dienol* mt	13,28	Todas
<i>cis</i> -limoneno óxido mt	13,70	1, 2, 3, 5
<i>trans</i> -limoneno óxido mt	13,84	1, 2, 3 (trazas)
Citronellal mt	14,30	1, 3, 4, 5
terpinen-4-ol mt	15,06	Todas
α -terpineol mt	15,46	Todas
mirtenal mt	15,68	1,2,3,5
decanal	15,88	Todas
<i>trans</i> -carveol mt	16,29	Todas
L-carveol mt	16,63	1,2,3,5
geranial mt	16,94	Todas
+carvone mt	17,05	Todas
neral mt	17,79	Todas (irregular)
Desconocido 1	17,87	Todas
α -copaeno sq	20,70	Todas
<i>trans</i> -cariofileno sq	21,87	Todas (trazas)
α -ionona	22,11	1, 3,5 (trazas)
β -humuleno sq	22,70	Todas (trazas)
α -cariofileno (a-humuleno) sq	22,74	Todas (trazas)
<i>trans</i> -b-farneseno sq	22,68	Todas (trazas)
<i>cis</i> -nerolidol sq	24,43	Todas
<i>trans</i> -nerolidol sq	25,30	4 (irregular)
β -sinensal* sq	28,37	3
α -sinensal*sq	29,57	Todas

2,8-dien-1-ol, *trans*-carveol y +carvone, algunos de los cuales como terpinoleno y sabineno contribuyen fuertemente a las dos primeras componentes del PCA desarrollado, respectivamente.

Por último, en lo referente a la variedad Arrufatina, podemos destacar que algunos compuestos presentaron un claro aumento, como en el caso de terpinen-4-ol y decanal, que contribuyen activamente a la primera componente, mientras que otros compuestos, por el contrario, disminuyeron su porcentaje como fue el caso de sabineno, β -mircenol y α -sinensal.

CONCLUSIONES

En este trabajo se ha conseguido caracterizar el aceite esencial de cinco variedades de clementinas (Clemenules, Clemenpons, Clemensol, Nulessin y Arrufatina). Las variedades Clemensol y Nulessin no habían sido caracterizadas hasta el momento desde este punto de vista.

Así, se han detectado alrededor de cuarenta compuestos volátiles, la mayoría de ellos comunes entre sí y pertenecientes al grupo de los monoterpenos, siendo el mayoritario el compuesto limoneno.

Tras el análisis de los resultados se ha establecido que las variedades Clemenules, Clemenpons y Nulesín son muy semejantes a nivel del perfil aromático de su aceite esencial, mientras que se han demostrado diferencias significativas en su composición para las variedades Clemensol y Arrufatina, que se diferencian claramente entre sí y también con respecto a Clemenules, Clemenpons y Nulesín. Sería necesario realizar muchos más análisis durante al menos dos campañas más para poder establecer alguna diferencia entre estas tres últimas variedades a nivel de su aceite esencial.

Agradecimientos

A Rafael Bono Ubeda y Aurelio Buj, por proporcionar las muestras de Clementinas. A José Luis Rambla por el asesoramiento del análisis cromatográfico. M.C. González-Mas y A. Gutierrez-Suanzes están actualmente contra-

tados por la fundación Agroalimed. Los contratos de A. Bermejo y A. Cano están financiados por el Fondo Social Europeo.

Bibliografía

- Asíns, M.J.; Juárez, J.; Pina, J.A.; Puchades, J. Carbonell, E.A.; Navarro, L. 2002. Nulesín, una nueva clementina. *Levante Agrícola*, 1er trimestre, 36-40.
- Carrera, E.; Ruiz-Rivero, O.J.; Rodrigo, M.J.; Iglesias, D.J.; Talón, M. 2007. Estudio de la producción de volátiles en cítricos: Alteraciones en la producción de aceites esenciales y aromas en flores y frutos. *Levante Agrícola*, 3er trimestre, 341-346.
- Chutia, M.; Bhuyan, P.D.; Pathak, M.G.; Sarma, T.C., Boruah, P. 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *Food Science and Technology*, 42, 777-780.
- Dugo, G.; Cotroneo, A.; Verzera, A.; Bonaccorsi, I. 2002. Composition of the volatile fraction of cold-pressed citrus peel oils. páginas 201-317. In *Citrus. The genus Citrus*. Editado por G. Dugo y A. Di Giacomo. Taylor & Francis, Londres y Nueva York.
- Fanciullino, A-L; Tomi, F.; Luro, F.; Desjobert, J.M.; Casanova, J. 2006. Chemical variability of peel and leaf oils of mandarins. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 359-367.
- Lota, M-L.; de Rocca Serra, D.; Tomi, F.; Casanova, J. 2001. Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 77-104.
- Malhotra, S.; Suri, S.; Tuli, R. 2009. Antioxidant activity of Citrus cultivars and chemical composition of Citrus karna essential oil. *Planta Medica*, 75, 62-64.
- Merle, H.; Morón, M.; Blázquez, M.A.; Boira, H. 2004. Taxonomical contribution of essential oils in mandarins cultivars. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 491-497.
- O'Bryan, C.A.; Crandall, P.G.; Chalova, V.I.; Ricke, S.C. 2008. Orange essential oils antimicrobial activities against *Salmonella* spp. *Journal of Food Science*, 73, 264-267.
- Ruberto, G.; Renda, A.; Piattelli, M.; Rapisarda, P.; Starrantino, A. 1997. Essential oil of two new pigmented citrus hybrids *Citrus clementina* x *Citrus sinensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 467-471.
- Tanaka, T. 1961. Citologia: Semi-centennial Commemoration Papers on Citrus Studies. Citologia Supporting Foundation: Osaka, Japan; 114.
- Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvárez, J.A. 2009. Chemical composition of Mandarin (*C. reticulata* L.), Grapefruit (*C. paradisi* L.), Lemon (*C. limon* L.) and Orange (*C. sinensis* L.) essential oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12, 236-243.

Proyección de las variables sobre las dos primeras componentes

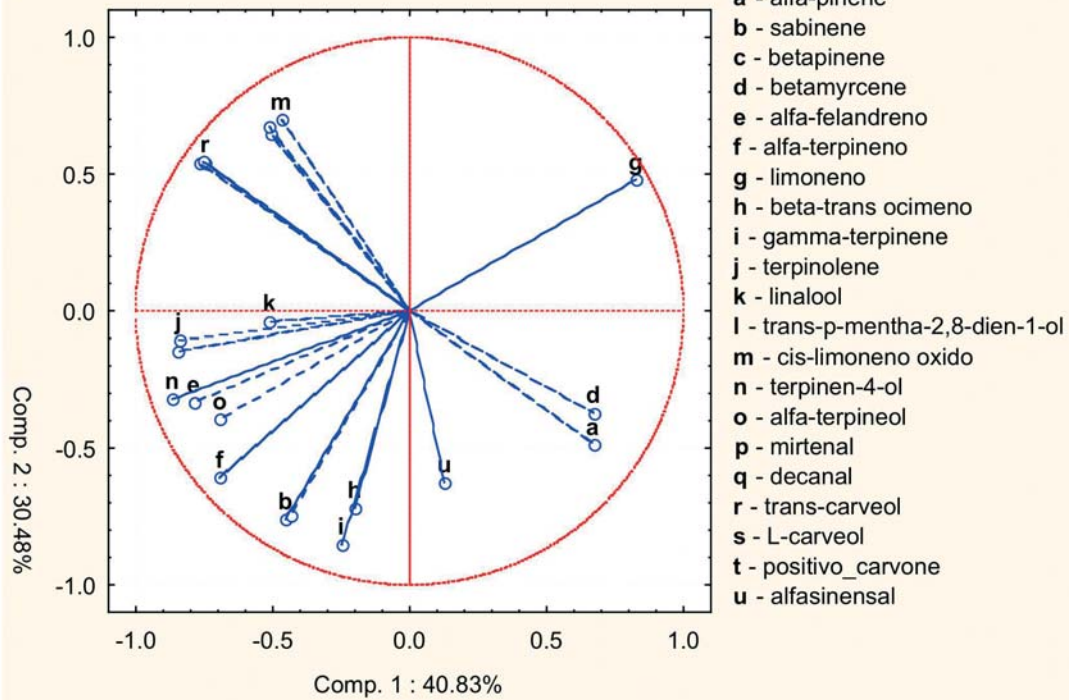


Figura 1. Proyección de las 21 variables estudiadas (componentes químicos detectados) sobre el plano formado por las dos primeras componentes principales del PCA realizado

Proyección de los casos sobre las dos primeras Componentes Principales

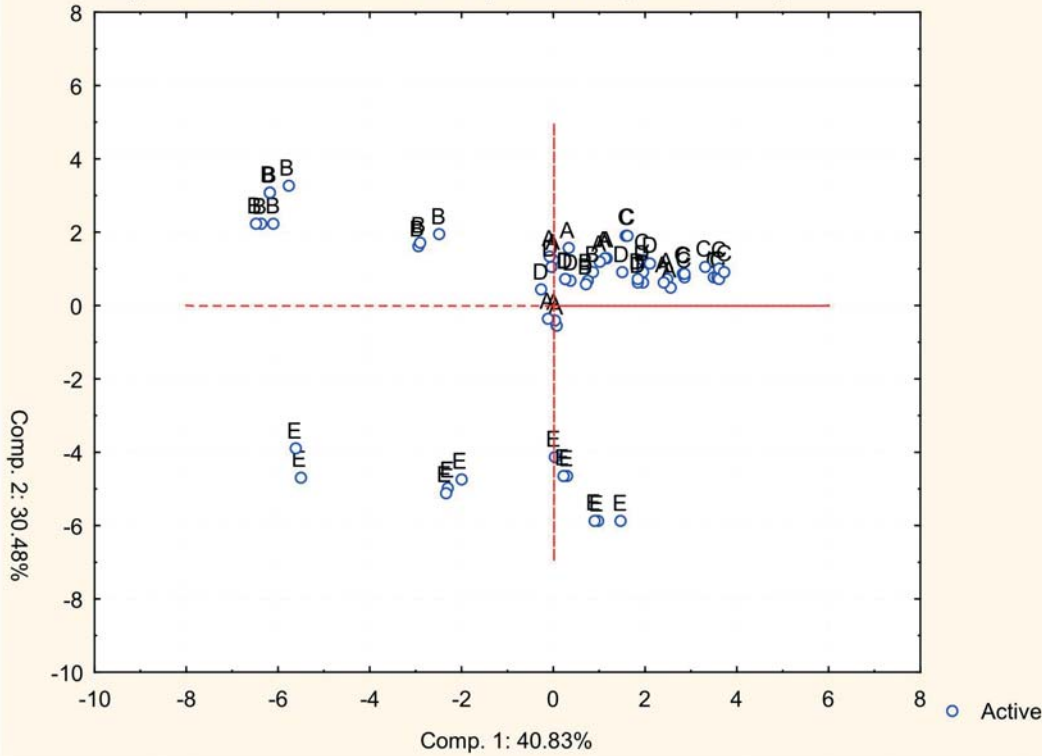


Figura 2. Proyección de los 60 casos sobre el plano formado por las dos primeras componentes principales del PCA realizado
 A - Clemenules; B - Clemensol; C - Nulesin; D - Clemenpons; E - Arrufatina



Foto 1: Sistema de destilación tipo Clevenger.