

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA
INGENIERIA QUIMICA



PROYECTO DE GRADO
**EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL DE
LA PLANTA NATIVA AMAMAYTOLA**

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERIA QUÍMICA

PRESENTADO POR: JEANNINE RUTH ALCON APAZA

TUTOR: ING. JESÚS GÓNGORA BELTRÁN

LA PAZ – BOLIVIA

2019



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE INGENIERIA**



LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS AUTORIZA EL USO DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO SI LOS PROPÓSITOS SON ESTRICTAMENTE ACADÉMICOS.

LICENCIA DE USO

El usuario está autorizado a:

- a) Visualizar el documento mediante el uso de un ordenador o dispositivo móvil.
- b) Copiar, almacenar o imprimir si ha de ser de uso exclusivamente personal y privado.
- c) Copiar textualmente parte(s) de su contenido mencionando la fuente y/o haciendo la cita o referencia correspondiente en apego a las normas de redacción e investigación.

El usuario no puede publicar, distribuir o realizar emisión o exhibición alguna de este material, sin la autorización correspondiente.

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS. EL USO NO AUTORIZADO DE LOS CONTENIDOS PUBLICADOS EN ESTE SITIO DERIVARA EN EL INICIO DE ACCIONES LEGALES CONTEMPLADAS EN LA LEY DE DERECHOS DE AUTOR.

Se dedica este proyecto de grado a mi querida abuela musa del presente trabajo de investigación quien con sus enseñanzas me ha transmitido el uso y bondades de la planta medicinal Amamaytola y a mi querido papá oxígeno para este proyecto quien me ha guiado académicamente y científicamente en todo momento

Agradecimientos

A Dios mi creador por darme fortaleza, consuelo y valor en todo momento en la elaboración de este proyecto.

Profundamente a mi abuelita Ramona Jiménez quien es la inspiración de este proyecto con la transmisión de sus conocimientos ancestrales en plantas medicinales de la medicina tradicional.

De todo corazón a mi Papá Emeterio Alcón por todos los valores, enseñanzas, invaluable conocimientos, apoyo incondicional y colaboración durante mi formación profesional y elaboración de este proyecto.

De igual forma, a mis tíos, tías, primos, primas, sobrinos y sobrinas por su confianza y apoyo.

A la Universidad Mayor de San Andrés por haberme abierto las puertas y darme la oportunidad de realizar mi formación profesional.

Este proyecto no hubiera sido posible sin el seguimiento, paciencia y confianza de mi tutor Ing. Jesús Góngora Beltrán y tribunales Ing. Américo Molina e Ing. Jorge Vásquez por todas las sugerencias para mejorar el presente proyecto.

Y mis sinceros agradecimientos a los investigadores del IIDEPROQ (Instituto de Investigación y Desarrollo de Procesos Químicos) e IIQ (Instituto de Investigaciones Químicas) por brindarme el espacio, equipos y materiales para desarrollar esta investigación, en especial a Saida Espada y Yaquelin Suño .

Resumen

El presente proyecto ha sido elaborado en plataforma Linux escrito en código LaTeX (Kile), los programas para gráficas se han realizado en gedit y luego ploteado en Gnuplot y el análisis estadístico efectuado en el software DesingExpert.

La investigación se ejecuta con el fin de obtener aceite esencial de la planta nativa boliviana Amamaytola por el método de arrastre de vapor, recolectada de la Estancia Karkapata y Callanca, Comunidad Copacati, Provincia Pacajes del departamento de La Paz, donde crece y su uso está vigente, mediante la identificación taxonómica de las muestras enviadas al Herbario Nacional de Bolivia se logra conocer el nombre científico de la planta como *Fabiana Densa Remy*.

Seguidamente, de la caracterización de la planta Amamaytola realizada en los laboratorios del Instituto de Investigación y Desarrollo de Procesos Químicos (IIDEPROQ) se obtienen como resultados: humedad 9.2882% por el método gravimétrico y 9.07% por balanza de humedad; contenido de cenizas 3.4254% en hojas y 1.6076% en tallos y finalmente una importante cantidad de lípidos con un valor de 16.0212%.

Montando el arreglo experimental en la instalaciones propias, se procede al acondicionamiento de la planta a través del tratamiento de limpieza, selección, secado y tamizado, obteniendo el aceite esencial con el rendimiento entre el (0.0706-0.1275) % como se muestra en las Figuras 4.5 y 4.6. Luego se ha ejecutado una serie de experimentos evaluando el rendimiento en cada una de ellas y el comportamiento mediante diseño experimental factorial 2^2 empleando el software estadístico DesignExpert, distinguiendo como variables o factores del proceso: tamaño de la muestra (11 y 22 mm) y tiempo del proceso (60 y 120 mín) y como variable respuesta el rendimiento.

Por otro lado, por medio de análisis antimicrobiano en placa, se ha determinado su actividad principalmente antibacteriana y antifúngica positiva contra microorganismos causantes del deterioro de la piel de la papaya, comparando su efecto con el del alcohol etílico, donde se observa la inhibición del crecimiento bacteriano en ambos.

Y finalmente, preparada e inyectada la muestra del aceite esencial de la Amamaytola al cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas en instalaciones del laboratorio del Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ) se ha obtenido por primera vez como posible principio activo al compuesto 1H-1,2,3 Triazol ($C_2H_3N_3$) como se muestra la Figura 4.13 que exhiben actividad antimicrobiana contra muchas bacterias, especialmente contra la *Mycobacteria tuberculosis*, comprobando la cualidad curativa de la Amamaytola para la tos y problemas pulmonares.

Índice

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Planteamiento del problema	2
1.3 Justificación del proyecto	2
1.3.1 Justificación técnica	2
1.3.2 Justificación económica-social	3
1.3.3 Justificación académica	3
1.3.4 Justificación ambiental	3
1.4 Objetivo general	4
1.4.1 Objetivos específicos	4
2 MARCO TEÓRICO	5
2.1 Amamaytola	5
2.1.1 Usos	6
2.1.2 Preparación	6
2.1.3 Determinación taxonómica de la planta	6
2.1.4 Caracterización de la planta	7
2.1.5 Tamizaje Fitoquímico	8
2.2 Aceites Esenciales	9
2.2.1 Características generales de los aceites esenciales	9
2.2.2 Constituyentes Químicos de los aceites esenciales	10
2.2.3 Propiedades de los compuestos químicos de los aceites esenciales	12
2.2.4 Propiedades físicas de los aceites esenciales	13
2.2.5 Propiedades organolépticas de los aceites esenciales	14
2.2.6 Importancia de las propiedades físicas y químicas de los aceites esenciales	14
2.3 Obtención de aceites esenciales	15
2.3.1 Extracción por el método de prensado en frío	15
2.3.2 Extracción por solventes	16
2.3.3 Enfloración (Enfleurage)	17

2.3.4	Hidrodestilación	17
2.3.5	Destilación por arrastre de vapor	18
2.4	Fundamentos matemáticos de la destilación por arrastre de vapor	19
2.4.1	Balance de masa o ecuación de continuidad	19
2.4.2	Balance de energía	20
2.5	Usos de los Aceites Esenciales	21
2.5.1	Industria Farmacéutica y dental	21
2.5.2	Industria alimentaria y de licores	22
2.5.3	Industria cosmética y de perfumería	22
2.5.4	Industria Fitosanitaria	22
2.6	Análisis de aceites esenciales	22
2.6.1	Cromatografía	22
2.6.2	Cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas	23
2.7	Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales	25
3	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	26
3.1	Ubicación geográfica de recolección de la Amamaytola	26
3.1.1	Recolección de la Amamaytola	27
3.2	Tratamiento de la muestra vegetal	28
3.2.1	Selección	28
3.2.2	Secado	28
3.3	Metodología para la caracterización de la planta Amamaytola	29
3.3.1	Contenido de humedad	29
3.3.2	Contenido de Cenizas	30
3.3.3	Contenido de Lípidos	30
3.4	Arreglo experimental	31
3.4.1	Descripción del equipo	32
3.5	Proceso de extracción del aceite esencial de la Amamaytola	35
3.5.1	Rendimiento del proceso de extracción	36
3.6	Diseño Experimental	36
3.6.1	Diseño factorial 2^k	36
3.6.2	Cantidad de materia vegetal	36
3.6.3	Humedad de la muestra vegetal	36
3.6.4	Tiempo del proceso	37
3.6.5	Tamaño de las hojas	37
3.7	Prueba de actividad antimicrobiana	37
3.7.1	Materiales y Reactivos	37
3.8	Análisis del aceite esencial por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-MS	39

4 ANÁLISIS Y RESULTADOS	40
4.1 Recolección de la Amamaytola	40
4.1.1 Taxonomía de la Amamaytola	41
4.1.2 Secado de la Amamaytola	42
4.2 Caracterización de la Amamaytola	43
4.2.1 Determinación de la Humedad	43
4.2.2 Determinación de Cenizas	43
4.2.3 Determinación de Lípidos	45
4.3 Proceso de extracción de aceite esencial	46
4.3.1 Rendimiento en función de la masa de Amamaytola	46
4.3.2 Rendimiento en función del tiempo	47
4.4 Rendimiento en función del tamaño de partícula	48
4.4.1 Factores del proceso de extracción de Aceite esencial de la Amamaytola	49
4.5 Diseño experimental	51
4.5.1 Cálculo de los efectos	51
4.5.2 Análisis de la varianza (ANOVA)	52
4.5.3 Análisis de residuos	54
4.6 Balance de masa y energía	57
4.6.1 Balance de masa	57
4.6.2 Balance de energía	58
4.7 Características del aceite esencial de la Amamaytola	60
4.7.1 Propiedades organolépticas	60
4.8 Prueba de Actividad antimicrobiana	60
4.9 Análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas	62
5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1 Conclusiones	63
5.2 Recomendaciones	65
Bibliografía	66
Apéndices	68
A Costo de adquisición de equipo de destilación	69
B Taxonomía de la Amamaytola	70
C Metodología de Caracterización de la Amamaytola	71
D Prueba Antimicrobiana	76

E Analisis CG-MS del aceite esencial de la Amamaytola

79

F Proceso de extracción

81

Indice de tablas

3.1 Tamiz ASTM	37
4.1 Taxonomía de la Amamaytola	41
4.2 Disminución del porcentaje de humedad en la Amamaytola en el tiempo	42
4.3 Datos para la determinación de humedad	43
4.4 Contenido en porcentaje de humedad en la Amamaytola	43
4.5 Datos experimentales para cálculo de cenizas en las hojas de Amamaytola	44
4.6 Porcentaje de cenizas en hojas de Amamaytola	44
4.7 Datos experimentales para cálculo de cenizas en los tallos de Amamaytola	44
4.8 Porcentaje de cenizas en tallos de Amamaytola	44
4.9 Datos experimentales obtenidos para la determinación de lípidos en la Amamaytola	45
4.10 Porcentaje de lípidos en la Amamaytola	45
4.11 Variación del rendimiento en función de la masa de Amamaytola	46
4.12 Variación del rendimiento en función del tiempo	47
4.13 Variación del rendimiento en función del tamaño de partícula	48
4.14 Niveles de masa	49
4.15 Niveles de la humedad	49
4.16 Niveles del tiempo	50
4.17 Niveles de tamaño de partícula	50
4.18 Muestra la matriz de diseño y respuesta	51
4.19 ANOVA para el diseño factorial 2^2	52
4.20 Ecuación generada por el programa DesignExpert en términos de factor codificado y factores reales	53
4.21 Datos para la medición de caudal	59
4.22 Propiedades organolépticas del aceite esencial de la Amamaytola	60
4.23 Respuesta a los hongos de la papaya	61
4.24 Prueba Antibacteriana	61
C.1 Determinación de humedad de la Amamaytola	72
C.2 Determinación de cenizas de la Amamaytola	73

C.3	Determinación de cenizas de la Amamaytola	74
C.4	Determinación de lípidos en la Amamaytola	75
D.1	Prueba Antibacteriana con agua floral	77
D.2	Prueba Antibacteriana con etanol	78
E.1	Análisis CG-MS del aceite esencial de la Amamaytola	80
F.1	Tamizado de la Amamaytola	82
F.2	Extracción del aceite esencial de la Amamaytola	83

Indice de figuras

2.1 Arbusto de la Amamaytola	5
2.2 Particularidades de los aceites esenciales	10
2.3 Extracción de aceites esencial de la cáscara de naranja por el método prensado en frio	16
2.4 Extracción de aceites esenciales por método de Enfloración	17
2.5 Obtención de aceite esencial por hidrodestilación	18
2.6 Sistema para obtención de aceite esencial por método de arrastre de vapor	19
2.7 Representación del espectro de monoterpenos: sabine (a) y -phellandrene (b); ysesquiterpenos; biciclogermacreno (c) y germacreno B (d)	24
3.1 Ubicación geográfica de la recolección de la planta Amamaytola	26
3.2 Imagen satelital de la recolección de la Amamaytola	27
3.3 Recolección de la planta Amamaytola	27
3.4 Procedimiento del tratamiento de la Amamaytola	29
3.5 Diagrama de flujo para caracterización	30
3.6 Equipo adquirido para la extracción de Aceite esencial para Amamaytola	31
3.7 Partes del equipo de extracción	32
3.8 Metodología para la Obtención de Aceite esencial de la Amamaytola	35
3.9 Metodología de evaluación antimicrobiana	38
3.10 Equipo CG-MS SHIMADZU QP2020 utilizado en la determinación del principio activo	39
4.1 Recolección de la Amamaytola	40
4.2 Selección de la Amamaytola	41
4.3 Muestra los datos obtenidos de la variación humedad en función del tiempo	42
4.4 Muestra datos experimentales del rendimiento en función de la masa	47
4.5 Muestra datos experimentales del rendimiento en función del tiempo	48
4.6 Muestra datos experimentales del rendimiento en función del tamaño de partícula	49
4.7 Muestra efectos de interacción	52
4.8 Muestra el supuesto de la varianza constante	54

4.9	Muestra el supuesto de normalidad residuos en función de residuos	55
4.10	Muestra supuesto de la independencia	56
4.11	Balance de masa del proceso de extracción de aceite esencial de la Amamaytola	57
4.12	Papaya deteriorada por efecto de microorganismos	60
4.13	Cromatograma obtenido del análisis del aceite esencial de Amamaytola	62
A.1	Costos del equipo de extracción	69
B.1	Taxonomía de la planta nativa Amamaytola	70

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

A lo largo de muchos años el uso de la medicina tradicional fue un factor predominante en el tratamiento de distintas enfermedades en las diferentes culturas alrededor del mundo, en muchos casos con resultados favorables en el ser humano. Sin embargo, los conocimientos aportados por los médicos tradicionales y curanderos solo se basan en el conocimiento empírico del uso de plantas medicinales usadas por generaciones, cuya dosificación proviene de la experiencia generación tras generación. De modo que, no siempre es posible que estos tratamientos cuenten con una base científica para probar su aplicación farmacológica.

El 2014 registran 15 163 especies de plantas distribuidas en el país; 14 163 entre especies endémicas, halladas solo en Bolivia, y especies nativas, que pertenecen al país pero están en otros lugares; 694 especies cultivadas, sembradas en Bolivia; 267 especies adventicias, introducidas de otros países; y 221 especies naturalizadas, establecidas en el país. La obra incluye aproximadamente el 85 por ciento de la cantidad total estimada en territorio nacional, posicionando a Bolivia entre los 12 países con mayor riqueza de plantas en el mundo.¹

La Amamaytola es una planta aromática nativa boliviana que crece en el altiplano paceño utilizada hace varios años por las comunidades rurales como cura para la tos, alivio y curación de fracturas óseas, alivio de dolores musculares además de consumo como refresco en el diario pastoreo, información obtenida en contacto directo con los pobladores de la estancia Karkapata y Callanca, Comunidad Copacati en la Provincia Pacajes del departamento de La Paz.

Las plantas medicinales que presentan actividad farmacológica se debe a sustancias químicas llamadas “principios activos” o “metabolitos secundarios”. Como ejemplo de estos metabolitos se tienen aceites esenciales, alcaloides, flavonoides, esteroides, cumarinas entre otros.

¹Peter MollerJorgensen; Michael Nee, Stephan Beck, 2015, Catalogo de Plantas vasculares de Bolivia, Missouri Botanical Garden., Herbario Nacional de Bolivia.; Herbario Nacional Forestal Martín Cárdenas; Herbario del Oriente Boliviano y New York Botanical Garden

La gran mayoría de los aceites esenciales destacan por sus aromas característicos.

El proceso de extracción de los aceites esenciales comúnmente utilizado a distintas escalas es mediante arrastre de vapor, en virtud de que los aceites esenciales son poco solubles en agua y el procedimiento es relativamente barato. Actualmente estos aceites, tienen un gran impulso como sustancias medicinales en los países mas desarrollados y existen métodos modernos para identificar sus componentes, lo que podría ayudar a la obtención de nuevos productos.

Bolivia cuenta con laboratorios artesanales, donde se producen cantidades pequeñas de aceites esenciales de plantas como el eucalipto, molle, menta entre otros. Por otro lado las universidades se encuentran realizando constantes estudios para la extracción y estudio de estos aceites esenciales.

1.2 Planteamiento del problema

Bolivia se encuentra entre los 12 países megadiversos del planeta en términos de especies de plantas, animales y riqueza genética. Sin embargo en los últimos años toda esta diversidad de especies se encuentran gravemente amenazadas de extinción por las diversas actividades humanas que conllevan la pérdida del hábitat por degradación, perturbación y destrucción de los ecosistemas, por ejemplo en el altiplano las “tolas” se ven amenazadas por la deforestación.

Las plantas medicinales solo se conocen a través de la medicina tradicional heredada de nuestros ancestros generación tras generación, estos conocimientos de plantas medicinales y su uso con el transcurso del tiempo se están perdiendo debido a la transmisión interrumpida a las nuevas generaciones, la falta de una farmacopea boliviana y una base científica de las propiedades de estas plantas. Los principios activos de las plantas generalmente se encuentra en los metabolitos secundarios como: aceites esenciales, flavonoides, cumarinas entre otras.

La obtención de las sustancias que contengan los metabolitos secundarios como los aceites esenciales de las plantas medicinales en especial de las plantas medicinales nativas bolivianas incentiva la investigación científica, obtención de nuevos productos con la industrialización y revalorización de la medicina tradicional boliviana.

A nivel mundial el 40 % de los remedios son derivados directa o indirectamente de las fuentes naturales, siendo el 75 % de origen vegetal y 25 % de origen animal y microorganismos. Y el 80% de la población mundial hace uso de alguna planta medicinal o aromática, siendo el 30 % por indicación médica.

1.3 Justificación del proyecto

1.3.1 Justificación técnica

Las tecnologías de extracción de aceites esenciales han avanzado bastante, sin embargo los costos de estos avances son altos, por lo que aún se utilizan las tecnologías convencionales

como: el método de arrastre de vapor. El presente proyecto propone la extracción de aceite esencial de la Amamaytola mediante arrastre de vapor puesto que como se menciona el costo es menor, es ecológico y sencillo en comparación con otros métodos alternativos de extracción como el de extracción por fluidos supercríticos y extracción por microondas, que pueden tener mayor rendimiento de extracción, pero para un escalamiento industrial aun es necesario realizar mayor investigación.

1.3.2 Justificación económica-social

Actualmente, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80 % de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica. Bolivia no es la excepción, la diversas culturas tras generaciones heredaron una gran riqueza de conocimientos en medicina tradicional que a pesar de ser aun utilizada se está perdiendo con el tiempo. El proyecto estudia la obtención de aceite esencial a partir de la Amamaytola, una planta nativa boliviana, revalorizando así su valor medicinal utilizada para curar y aliviar golpes musculares y óseos, tos o problemas respiratorios y tener capacidad hidratante.

La obtención de aceite esencial de la planta nativa Amamaytola fomenta en un futuro cercano la posibilidad de producir el aceite esencial a una escala mayor, lo que permitirá a las comunidades un ingreso económico y generación de empleos para su desarrollo, elaboración de nuevos productos para la industria química farmacéutica boliviana o medicina tradicional, que beneficien la salud de la población en general con las bondades de la planta nativa Amamaytola y/o el aceite esencial de la planta nativa Amamaytola. Por otro lado se incentiva la investigación científica en nuestro país revalorizando nuestra riqueza vegetal y nuestros conocimientos ancestrales en medicina tradicional. El presente proyecto pretende impulsar el aprovechamiento de la planta nativa medicinal Amamaytola.

1.3.3 Justificación académica

El proceso de extracción de aceite esencial de la Amamaytola requiere el conocimiento principalmente de química orgánica, transferencia de energía y masa, destilación, microbiología y cromatografía que están contempladas en la malla curricular de la carrera de Ingeniería Química de la Universidad Mayor de San Andrés U.M.S.A.

1.3.4 Justificación ambiental

Tradicionalmente plantas altiplánicas como las tolas son utilizadas como combustible en la fabricación de estuco o en los domicilios de las diferentes comunidades, tal es el caso de la Amamaytola, que en comparación de su aprovechamiento de sus bondades medicinales gran parte es empleada como combustible, motivo que impulsa el presente proyecto y propone el uso de la planta nativa Amamaytola como materia prima para obtención de aceite esencial.

El proceso de obtención de aceites esenciales por arrastre de vapor, usado desde la antigüedad hasta nuestros días, ha demostrado su cualidad de ser amigo del medio ambiente gracias al reducido impacto.

1.4 Objetivo general

Obtención de aceite esencial de la Amamaytola por el método de arrastre de vapor a nivel laboratorio.

1.4.1 Objetivos específicos

- Caracterizar la materia prima Amamaytola.
- Montar el equipo de arrastre de vapor.
- Determinar el rendimiento del proceso.
- Determinar los parámetros favorables para el proceso de extracción.



Capítulo 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Amamaytola

La Amamaytola es un arbusto sembrada en la memoria de nuestros ancestros, utilizada en la medicina tradicional (humana y animal) de nuestro país por sus características curativas, de la voz de los pobladores de Karkapata y Callanca.



Figure 2.1: Arbusto de la Amamaytola

2.1.1 Usos

Uso interno

Las infusiones se usan como remedio para aliviar:

- Tos
- Dolores estomacales
- Resfrios

Uso externo

En forma de compresas se utiliza:

- Luxaciones
- Golpes
- Fracturas
- Reumatismo

2.1.2 Preparación

Infusión

Lavar un ramito de Amamaytola, sumergirlos en agua hirviendo y dejar reposar por 10 minutos, no debe sobrepasar este tiempo debido a que se incrementa el amargor. Beber en ayunas.

Cataplasma

Machacar las hojas en un batan (mortero) añadir agua tibia formar una pasta añadiendo alcohol etílico formando una pasta. Colocar en una gasa o tela negra y cubrir el área afectada.

2.1.3 Determinación taxonómica de la planta

La ciencia que trata los principios de clasificación de los seres vivos es la taxonomía. Es indispensable a la hora de estudiar a fondo una especie, poder organizarla según sus características genéticas, morfológicas, etc. La botánica sistemática realiza una descripción científica y nombra a las especies vegetales ordenándolas dentro de un sistema.

En cuanto a la nomenclatura que se le da a las plantas se utilizan palabras en latín o latinizadas. La más utilizada es la binomila fundada por Linneo. La primera palabra corresponde al género mientras que la segunda será la especie. En ocasiones se escribe la abreviación de la

persona que lo descubre y nombra la planta por primera vez L. para Linneo, DC. para De Canolle o Wild para Willdeow.

2.1.4 Caracterización de la planta

Ensayos morfológicos, anatómicos y organolépticos

Estos ensayos sirven para confirmar la identidad de la planta, da una idea de su conservación y ayuda a detectar posibles adulteraciones.

Análisis organoléptico

Los caracteres organolépticos incluyen olor, color, sabor y textura.

Olor Aromático, aliaceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc. Muchas plantas poseen olores característicos como la menta, anís, la canela, etc.

Color . Uniforme o no.

Sabor . Dulce, amargo, astrigente, ácido, salino, punzante, nauseabundo, aromático.

Ensayos físico-químicos cuantitativos

Los ensayos cuantitativos más relevantes son los siguientes:[2]

- Humedad
- Cenizas
- Lípidos
- Proteínas
- Carbohidratos
- Densidad
- Índice de refracción

Determinación de la Humedad

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10% . Existen varios métodos para la determinación de la humedad.

- Método gravimétrico
- Método volumétrico
- Método Karl- Fisher

Determinación de Cenizas

Representan el contenido de sales minerales o en materia inorgánica de la muestra. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir posibles falsificaciones. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5 %. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (por ejemplo, las sales de potasio son responsables de la acción diurética del equiseto, diente de león y ortosifon). También si su contenido es elevado, puede ser indicador de contaminación por acción de mineral o tierra, especialmente en raíces.

Determinación de Lípidos

Los lípidos representan las formamas concentrada de calorías en los alimentos. Nos proveen de ácidos grasos imprescindibles (linoléico, linolénico, etc.), de algunas vitaminas y precursores de hormonas. Se pueden emplear disolventes no polares como éter de petróleo , hexano, cloro-formo, etc., los rendimientos difieren de los obtenidos con eter de petróleo. Los lípidos extraíbles con este éter son ácidos grasos libres, acilgliceridos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras, carotenoides y clorofilas.

2.1.5 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y aplicación de reacciones de coloración. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen unicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con el tamizaje farmacológico. Así, cuando una planta revela acción sobre el sistema nervioso central durante el tamizaje farmacológico y presencia de alcaloides en el tamizaje fitoquímico, es bastante probable que la acción farmacológica sea debida a la fracción alcaloidal.

De lamisma manera, el hecho de evidenciarse la presencia de flavonoides en el tamizaje fitoquímico y una acción anti-inflamatoria en el tamizaje farmacológico, esta última puede asociarse a la fracción de flavonoides. Esta acción puede, entonces, ser aislada y sometidas a pruebas másespecificas. ¹

2.2 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos, en los cuales el olor no debe atribuirse a una sola de estas sustancias [4]. Los aceites esenciales son productos caracterizados por un fuerte olor, constituidos por mezclas complejas de compuestos volátiles y obtenidos a partir de algún material natural mediante destilación (seca, con agua o vapor) o por expresión mecánica (para frutas las frutas cítricas) [3].

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de cien compo- nentes que pueden ser:

- Compuestos alifáticos de bajo peso molecular(alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, es- teres y ácidos),
- Monoterpenos
- Sesquiterpenos y
- Fenilpropanos

En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente de- sagradable como por ejemplo los del ajo y cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados [4].

2.2.1 Características generales de los aceites esenciales

En condiciones ambientales, los aceites esenciales son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella. Poseen un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes, en algunos casos, llegan a ser inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides. Son inocuos, mientras la dosis suministrada no supere los límites de toxicidad. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generan oligomeros de naturaleza indeterminada. Son solubles en disolventes orgánicos. [4]

¹Fundamentos de tecnología de Productos Fitoterapéuticos, NikolaiSharapin, editado por Roberto Pinzon S., 2000

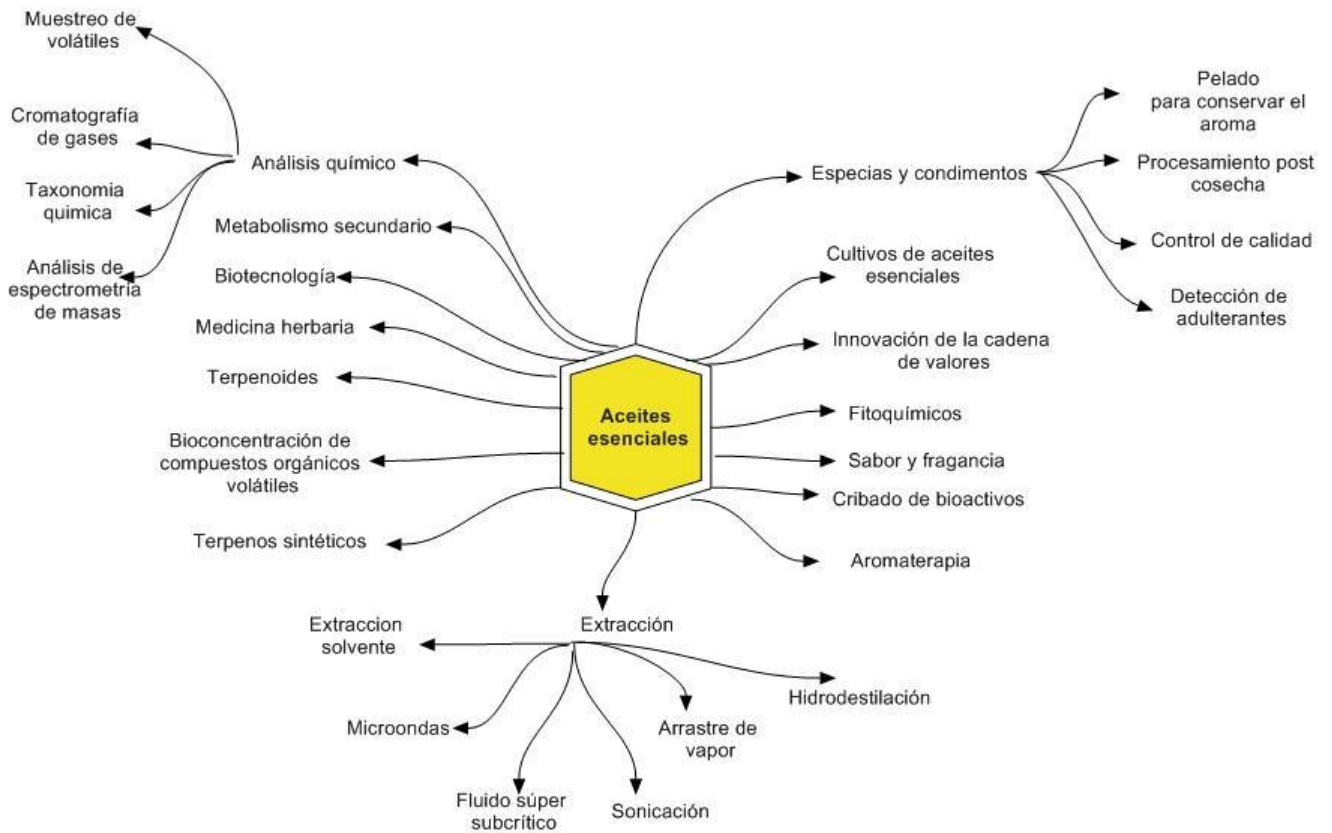


Figure 2.2: Particularidades de los aceites esenciales

2.2.2 Constituyentes Químicos de los aceites esenciales

Los constituyentes volátiles, que conforman los aceites esenciales, constituyen alrededor del 1% de los metabolitos secundarios de las plantas y están representados principalmente por terpenoides, fenilpropanoides/bencenoides y derivados de ácidos grasos y aminoácidos. De forma general, la composición química de los aceites esenciales puede agruparse en dos grandes grupos: terpenoides y no terpenoides [3].

Terpenoides

Los terpenoides, isoterpenoides o terpenos son una de las clases principales de los compuestos orgánicos en la naturaleza, de los cuales se conocen más de 30 mil compuestos aislados de plantas, microorganismos y animales (Bramley, 1997; Dewick, 2002; Baser y Demirci, 2007). Estos compuestos son constituyentes importantes de los aceites esenciales.

Tradicionalmente se han considerado derivados del 2-metil-1,3-butadieno (isopreno). Esta

llamada "regla del isopreno", propuesta por el químico alemán Wallach en 1887, ha permitido clasificarlos y estudiarlos, pero en realidad los terpenos no derivan directamente del isopreno. Por esta regla, se considera que los terpenos son productos de fusión de dos o más moléculas del isopreno $(C_5H_8)_n$ donde n toma valores como: hemiterpenos ($n=1$), monoterpenos ($n=2$), sesquiterpenos ($n=3$), diterpenos ($n=4$), sesterpenos ($n=5$), triterpenos ($n=6$), tetraterpenos ($n=8$) y politerpenos ($n=10$).

Monoterpenos Los monoterpenos están formados por dos unidades de isopreno. De acuerdo a su estructura pueden ser: acíclicos o lineales, monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos, atendiendo al número de anillos presentes. Además, pueden ocurrir adiciones (oxidación), eliminación de dobles enlaces (reducción) y adición de oxígeno para formar alcoholes (-OH), cetonas (-CO), aldehídos (-CHO) y ésteres (-OCO-). [3]

Los monoterpenos monocíclicos, con una estructura del tipo 1-metil-4-isopropilciclohexano (*p*-mentano), representan el grupo mayoritario. Los monoterpeno bicíclicos pueden tener estructuras tipo *87* careno (-3-careno), pinano (ej. -pineno, pineno), canfano (ej. canfeno), fenchano (ej. alcanfor), bornano (ej. borneol) y tuyano (ej. -tuyeno).

Bajo la denominación de iridoides se agrupan una serie de monoterpenos bicíclicos (C_{10}) derivados biosintéticamente del monoterpeno geraniol, que presentan como estructura básica común un ciclopentapirano denominado iridano, por haberse detectado la primera vez en unas hormigas pertenecientes al género *Iridomyrmex*. Estos compuestos pueden encontrarse como estructuras abiertas (secoiridoides) o cerradas (iridoides) generalmente en forma de heterosídica, mayoritariamente como glucósidos. Existen una serie de plantas que se usan por sus propiedades farmacológicas precisamente porque alguno de sus principios activos son de la naturaleza iridoídica. Entre las más importantes se destaca la valeriana (*Valeriana officinalis*), de los cuales se utilizan los órganos subterráneos y las hojas de Olivo (Dewick, 2002).

Sesquiterpenos Los sesquiterpenos están formados por tres unidades de isopreno. El hecho de poseer cinco átomos de carbono más que los monoterpenos hacen que tengan una mayor diversidad estructural y estereoquímica. Esto hace además de que sean menos volátiles que los monoterpenos y tengan menos importancia en las propiedades sensoriales (Bramley, 1997).

De acuerdo a su estructura pueden ser: acíclicos o lineales, monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. De forma similar a los monoterpenos, pueden ocurrir adiciones (oxidación), eliminación de dobles enlaces (reducción) y adición de oxígeno para formar distintos alcoholes (-OH), cetonas (-CO), aldehídos (-CHO) y ésteres (-OCO-).

Diterpenos Los diterpenos están constituidos por cuatro unidades de isopreno fusionadas de cabeza-cola. Al ser moléculas relativamente grandes poseen mayores puntos de ebullición que los sesquiterpenos y solo se encuentran en los aceites esenciales obtenidos con destila-

ciones prolongadas. De acuerdo a su estructura pueden ser: acíclicos o lineales, monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos.

Homoterpenos Este grupo irregular de terpenoides acíclicos con esqueletos de carbono C11 y C16, los que son formados generalmente en tejidos dañados de las plantas.

No terpenoides

Además de los terpenoides, en los aceites esenciales están presentes otros compuestos de distinta naturaleza química, donde se incluyen compuestos alifáticos saturados e insaturados, así como compuestos aromáticos. De acuerdo a las funciones químicas se encuentran alcanos, alquenos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, lactonas, fenilpropanoides, bencenoides, compuestos azufrados y compuestos nitrogenados.

2.2.3 Propiedades de los compuestos químicos de los aceites esenciales

En general los aceites esenciales consisten en compuestos químicos que tienen hidrógeno, carbono y oxígeno como componentes básicos. Estos se pueden subdividir en dos grupos: los hidrocarburos, que se componen casi exclusivamente de terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos); y los compuestos oxigenados, principalmente ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes, fenoles y óxidos; ácidos, lactonas, azufre y compuestos de nitrógeno a veces también están presentes.

Terpenos

Los hidrocarburos terpénicos comunes incluyen limoneno (antiviral, que se encuentra en el 90 % de los aceites cítricos) y pineno (antiséptico, que se encuentra en altas proporciones en los aceites de pino y trementina). Los sesquiterpenos tienen excelentes propiedades antiinflamatorias y bactericidas.

Compuestos oxigenados

Aldehídos: Citral, citronelal y neuronales son aldehídos importantes que se encuentran principalmente en aceites con aroma a limón, como melisa, hierba de limón, verbena de limón, citronela, etc. Los aldehídos en general tienen un efecto sedante; citral tiene propiedades antisépticas.

Fenoles: Estos tienden a tener un efecto bactericida y fuertemente estimulante, pero pueden ser irritantes para la piel. Los fenoles comunes incluyen eugenol (que se encuentra en el clavo de

olor y la bahía de West India), timol (que se encuentra en el tomillo), carvacrol (que se encuentra en el orégano y el ajedrea).

Cetonas: Algunos de los constituyentes tóxicos más comunes son las cetonas, como la tujona que se encuentra en la artemisa, tanaceto, salvia y ajeno Las cetonas no tóxicas incluyen jazmín (en jazmín) y fenchone (en aceite de hinojo).

Óxidos: Con mucho, el óxido más importante es el cineol (o eucaliptol). Tiene un efecto expectorante y es bien conocido como el componente principal del aceite de eucalipto.

También se encuentra en la amplia gama de otros aceites. especialmente los de una naturaleza alcanfoceous) como romero, laurel de laurel, árbol de té y cajuput.

Ésteres: Probablemente el grupo más extendido que se encuentra en el aceite esencial, que incluye acetato de linalilo (encontrado en la bergamota, la salvia romana y la lavanda) y el geranil (que se encuentra en la mejorana dulce). Son característicamente fungicidas y sedantes, con un aroma afrutado.

Alcoholes: Estos compuestos tienen buenas propiedades antisépticas y antivirales con una calidad edificante; también son generalmente no tóxicos. Entre los alcoholes terpénicos más comunes están linalol (en palo de rosa, linalo y lavanda), citronelol (en rosa, limón, eucalipto y geranio) y geraniol (encontrado en palmarosa): también borneol, metol, terpineol ,nerol, farnesol, vetiverol, bencil) alcohol y cedro.

2.2.4 Propiedades físicas de los aceites esenciales

Gravedad específica

La gravedad específica es un criterio importante de la calidad y pureza de un aceite esencial. Los valores para aceites esenciales varían entre los límites de 0.696 y 1.188 a 15 °C, en general, la gravedad específica es menor a 1.000. Por lo tanto, el aceite esencial se puede recoger sobre agua (aceite flotante).

Solubilidad

Solubilidad en alcohol La mayoría de los aceites esenciales son solo ligeramente soluble en agua y muy miscible con el alcohol absoluto. La solubilidad del aceite puede cambiar con la edad.

Solubilidad en agua La mayoría de los aceites esenciales de interés comercial son volátiles al vapor, razonablemente estables a la acción del calor y prácticamente insolubles en agua y, por lo tanto, adecuados para el procesamiento por destilación al vapor.

Residuo de evaporación

Un criterio importante de pureza es el residuo de evaporación; es decir, el porcentaje del aceite que no es volátil a 100 °C. Es importante estudiar el olor de los aceites a medida que se volatiliza durante el calentamiento.

2.2.5 Propiedades organolépticas de los aceites esenciales

Color

Casi todos los aceites esenciales son incoloros en estado puro y frescos o se pueden convertir en incoloros por redistilación; ante la exposición al aire adquieren diversos colores y se transforman en verdes, como el aceite de ajeno; amarillos. El color azul del aceite de manzanilla es una propiedad inherente del compuesto, incluso cuando es recién destilado, y se debe al hidrocarburo muy insaturado chamazuleno (C₁₅H₁₈).

Olor

El olor de los aceites esenciales es muy variable: es su propiedad más característica. El olor de un aceite esencial se modifica sensiblemente ante la exposición del aire.

Sabor

Los sabores de los aceites esenciales son casi tan variables como sus olores. Algunos son dulces, otros tienen sabores suaves, picantes, ácidos, cáusticos o ardientes.²

2.2.6 Importancia de las propiedades físicas y químicas de los aceites esenciales

Las propiedades químicas de los aceites esenciales dependen de factores naturales tales como un tipo de especie, el origen geográfico y la ubicación de la planta, el momento de la cosecha, las partes de las cuales se extraen los aceites entre otros.

Los componentes y porcentajes de los aceites esenciales son diferentes de aceite a aceite incluso para la misma planta botánica debido a los siguientes factores:

²Remington Farmacia, 20th edición, Tomo I, Alfonso R. Gennaro, Editorial medica panamericana

- a) Tiempo de siembra y plantación La mayoría de las hierbas se plantan, pero pequeñas cantidades también pueden ser plantas silvestres cultivadas o recolectadas. Por medio de un ejemplo con menta verde, el porcentaje de aceite de una cosecha de verano es el doble que el de una cosecha de invierno.
- b) Elementos del suelo Los componentes minerales del suelo tales como el molibdeno, manganeso, cobre, calcio, zinc o hierro definen la composición de los aceites esenciales de algunas plantas como por ejemplo El B-phellandrene aumenta en el aceite esencial de mejorana con niveles altos de los elementos mencionados anteriormente.
- c) Irrigación El mayor rendimiento de material vegetal se obtiene al aumentar el área foliar. Por ejemplo, esto sucederá si un campo de albahaca se riega cada 4 días. El aceite esencial es más alto a niveles medios de humedad del suelo.
- d) Tiempo de cosecha El rendimiento del aceite esencial de las plantas aumenta con el grado de madurez en la etapa de floración completa.

2.3 Obtención de aceites esenciales

Los aceites esenciales se extraen principalmente por los procedimientos que se indican a continuación.

- Extracción por el método de prensado en frío
- Extracción por solventes
- Enfloración (enfleurage).
- Hidrodestilación.
- Destilación por arrastre de vapor.

Por otro lado, se encuentran en estudio nuevas técnicas como ser:

- Extracción por fluidos supercríticos
- Hidrodestilación asistida por microondas
- Extracción asistida por ultrasonido

2.3.1 Extracción por el método de prensado en frío

El término prensado en frío significa teóricamente que el aceite se presiona con expulsión a bajas temperaturas y presión, también se conoce como método de escarificación. Este proceso garantiza que el aceite resultante sea 100 % puro y retenga todas las propiedades de la planta

(Figura 2.2). Es un método de extracción mecánica en el que se reduce y minimiza el calor en toda la preparación de la materia prima.

En este proceso, la capa exterior de las plantas que contiene el aceite se elimina mediante lavado. Luego, se presiona toda la planta para exprimir el material de la pulpa y liberar el aceite esencial de las bolsas. El aceite esencial sube a la superficie del material y se separa del material por centrifugación.(Arnould et al., 1981). La extracción por prensado en frío se usa exclusivamente con frutas cítricas ya que es una manera de extraer aceite de la capa más externa de la cáscara de la fruta.³

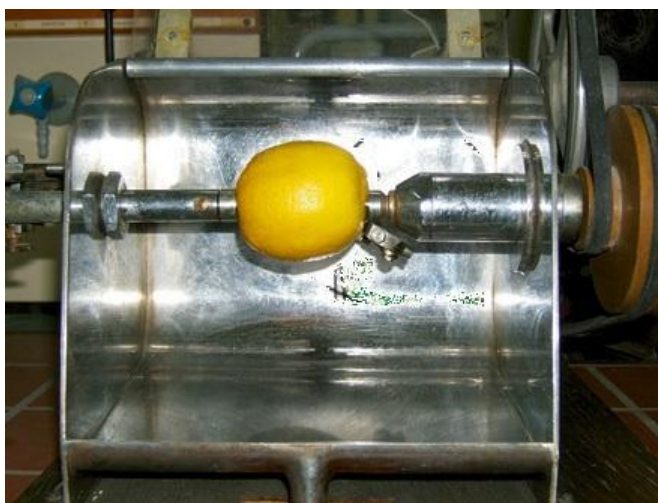


Figure 2.3: Extracción de aceites esencial de la cáscara de naranja por el método prensado en frío

2.3.2 Extracción por solventes

En el método de extracción por solvente de la recuperación de aceites esenciales, una unidad de extracción se carga con bandejas perforadas de material vegetal de aceite esencial y se lava repetidamente con solvente. La extracción de solventes se utiliza en el procesamiento de perfumes, aceites vegetales o biodiesel. La extracción con disolventes se utiliza en plantas delicadas para producir cantidades más altas de aceites esenciales a un costo menor (Chrissie et al., 1996). El procedimiento de preparación de muestras más frecuentemente aplicado en el análisis de material vegetal. La calidad y cantidad de la mezcla extraída se determinan por el tipo de calor adicional aplicado debido a que el método está limitado por la solubilidad del compuesto en el solvente específico usado. Aunque el método es relativamente simple y bastante eficiente, presenta desventajas tales como un tiempo de extracción prolongado, un consumo de solvente relativamente alto y una reproducibilidad a menudo insatisfactoria (Dawidowicz et al., 2008).

³MANUAL DE QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES, DoTERRA, Editado por Dr. David K. Hill DC.

2.3.3 Enfloración (Enfleurage)

El procedimiento consiste en una serie de marcos de madera rectangulares donde en la parte media de su altura, se inserta una lámina de vidrio. Los marcos así preparados se denominan chasis y durante la operación se colocan uno sobre otro formando una pila. Cada chasis está recubierto por grasa en el cual se colocan la muestra vegetal generalmente pétalos de flores, que se dejan reposar al menos 24 horas, pasado el plazo se reemplazan por material fresco y se repite el proceso hasta que la grasa quede saturada, posteriormente el aceite esencial se extrae con alcohol.[4]



Figure 2.4: Extracción de aceites esenciales por método de Enfloración

2.3.4 Hidrodestilación

La hidrodestilación es un método tradicional para la extracción de aceites esenciales. El agua o la hidrodestilación es una de los métodos más antiguos y más sencillos (Meyer-Warnod et al., 1984). Utilizándose para la extracción de aceites esenciales.

Hidrodestilación normalmente utilizada para aislar aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales. El método convencional para la extracción de aceites esenciales es la hidrodestilación (HD), en la que los aceites esenciales son evaporados calentando una mezcla de agua u otro disolvente y materiales vegetales, seguida de la licuefacción de los vapores en un condensador. La configuración comprende también un condensador y un decantador para recoger el condensado y para separar los aceites esenciales del agua.

Hay tres tipos de hidrodestilación: con inmersión en agua, con inyección directa de vapor y con inmersión en agua e inyección de vapor. Es un proceso multilateral que puede ser utilizado para grandes o pequeños industrias. El tiempo de destilación depende del material vegetal que se procesa. La destilación prolongada produce solo una pequeña cantidad de aceite esencial, pero agrega compuestos no deseados de alto punto de ebullición y oxidación de productos.

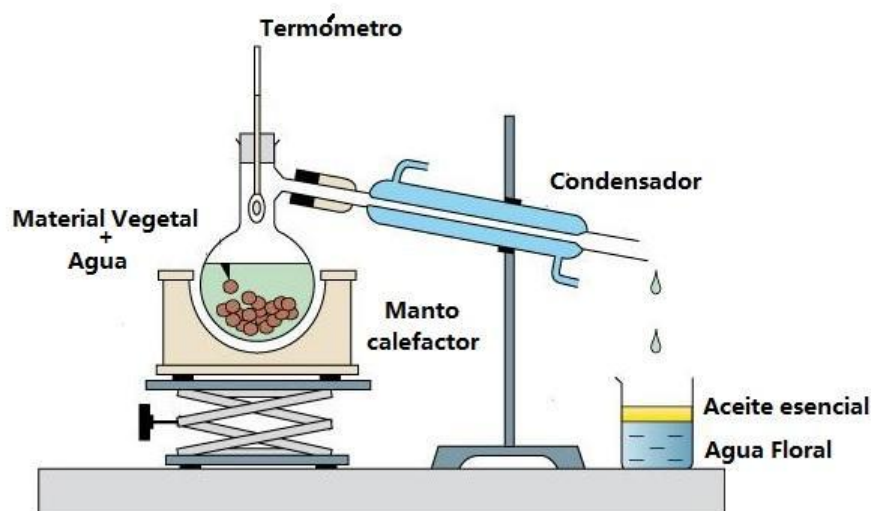


Figure 2.5: Obtención de aceite esencial por hidroddestilación

2.3.5 Destilación por arrastre de vapor

La mayoría de los aceites esenciales se extraen destilándolos con arrastre de vapor. Este procedimiento, que es el más corriente en la industria que nos ocupa, se presta especialmente para la extracción de los aceites esenciales en virtud de que estos son insolubles o muy poco solubles en agua.[4] Una vez fue un método de laboratorio popular para la purificación de compuestos orgánicos, pero se ha vuelto obsoleto por destilación al vacío. La destilación por arrastre de vapor sigue siendo importante en ciertos sectores industriales. (Fahlbusch et al., 2003). La destilación a vapor es uno de los métodos antiguos y oficiales aprobados para el aislamiento de aceites esenciales a partir de materiales vegetales. Los materiales vegetales cargados en el alambique se someten al vapor sin maceración en agua. El vapor inyectado pasa a través de las plantas desde la base del alambique hasta la parte superior.

La destilación por arrastre de vapor es un método donde el vapor fluye a través del material como se muestra en la Figura 2.5. Este vapor funciona como agentes que rompen los poros de la materia prima y liberan el aceite esencial de la misma. El sistema produce una mezcla de vapor y aceite esencial deseado. Este vapor se condensa y el aceite esencial es recogido (Rai R. y Suresh B., 2004). El principio de esta técnica es que la presión de vapor combinada es igual a la presión ambiental a aproximadamente 100°C, de modo que los componentes volátiles con los puntos de ebullición que van desde 150 a 300°C pueden evaporarse a una temperatura cercana a la del agua. Además, esta técnica puede ser también realizada bajo presión según la dificultad de extracción de aceites esenciales.

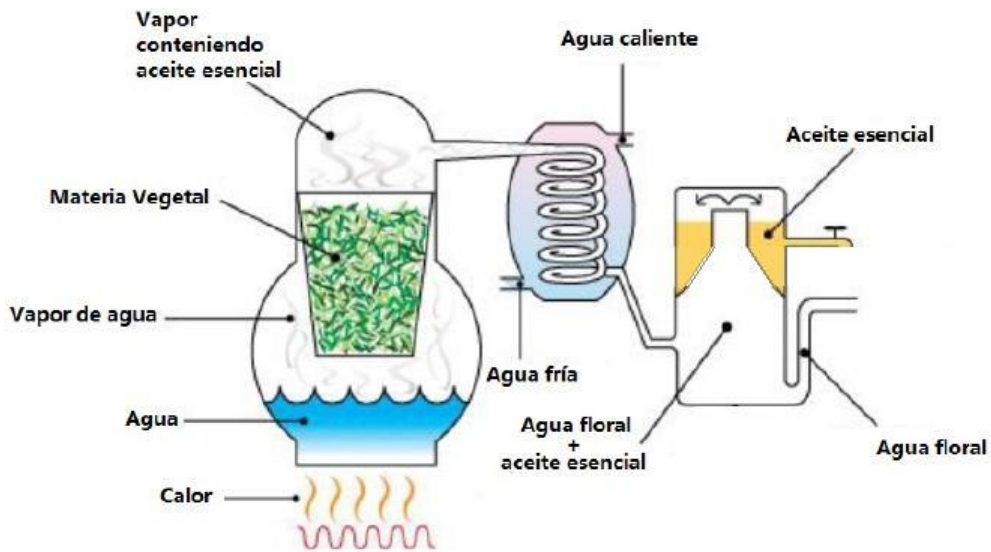


Figure 2.6: Sistema para obtención de aceite esencial por método de arrastre de vapor

2.4 Fundamentos matemáticos de la destilación por arrastre de vapor

2.4.1 Balance de masa o ecuación de continuidad

La ecuación de balance de masa está dada por [13]

$$\frac{dm_{vc}}{dt} + \Delta \dot{m}_{cf} = 0 \quad (2.1)$$

la ecuación previa también se puede escribir como

$$\frac{dm_{vc}}{dt} + \Delta(\rho v A)_{cf} = 0 \quad (2.2)$$

o

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \vec{\nabla}_0 \cdot \rho \vec{v} = 0 \quad (2.3)$$

La ecuación de la continuidad es una consecuencia de la ley de conservación de la masa, donde el subíndice "cf" indica que el término se aplica a todas las corrientes que fluyen. Para determinar el caudal o flujo de masa se utiliza la ecuación de continuidad.

$$\rho_1 v_1 \int_1 dA_1 + \rho_2 v_2 \int_2 dA_1 = 0$$

$$\rho_1 v_1 A_1 = \rho_2 v_2 A_2 = \dot{m}$$

Por, otro, lado si la densidad cúbica de la masa del fluido es constante la ecuación de continuidad se transforma en la siguiente ecuación

$$A_1 v_1 = A_2 v_2$$

donde el producto $Av = \text{cte}$: se denomina: caudal, gasto, rapidez de flujo o flujo de volumen. Por lo tanto la ecuación previa se transforma en

$$Q_1 = Q_2$$

2.4.2 Balance de energía

La ecuación para balance de energía para sistemas abiertos representados por volúmenes de control está dada por⁴

$$\frac{d(mU)_{vc}}{dt} = \Delta \left[\left(H + \frac{1}{2} u^2 + zg \right) \dot{m} \right]_{cf} = \dot{Q} + \dot{W}$$

$$\frac{d(mU)_{vc}}{dt} + \Delta [H\dot{m}]_{cf} = \dot{Q} + \dot{W} \quad (2.4)$$

Balance de energía alrededor del lecho

$\Delta H = \Delta U + \Delta (P,V)$ El término $\Delta (P,V) = 0$, puesto que la presión y volumen del sistema es constante. Esta relación indica que la energía de presión no tiene influencia sobre el valor energético del lecho

Por lo tanto se tiene $\Delta H = \Delta U$

$$\frac{dm\tilde{U}_L}{dt} = \dot{m}_{en}\tilde{H}_{L,v,en} - \dot{m}_{sa}\tilde{H}_{L,v,sa}$$

Donde:

\tilde{U}_L energía interna por unidad de masa del sistema agua-aceite esencial líquida en el sistema agua de trabajo-lecho de Amamaytola (kJ/kg).

\dot{m}_{en} flujo de masa de vapor que ingresa al lecho (kg/h).

\dot{m}_{sa} flujo de masa de vapor que sale del lecho (kg/h).

$\tilde{H}_{L,v,en}$ entalpía de masa del flujo de vapor que ingresa al lecho

(kJ/kg)

$\tilde{H}_{L,v,sa}$ entalpía de masa del flujo de vapor de salida al lecho

(kJ/kg)

⁴J. M. Smith H.C. Van Ness M.M. Abbott, Cuarta ed., 1997, Mc-Graw Hill

2.5 Usos de los Aceites Esenciales

El consumo de aceites esenciales en la industria es muy variado y se emplean como aromatizantes, ambientadores y artículos de limpieza. Además se emplean en la elaboración de jabones, champúes, licores, cremas desodorantes y hasta alimentos.

2.5.1 Industria Farmacéutica y dental

Esta es una de las ramas de la industria que más aceites esenciales emplea. Históricamente la mayoría de los medicamentos han tenido origen en los compuestos de las plantas. Además, se utilizan en la fabricación de neutralizantes del sabor desagradable de muchos medicamentos. Por otro lado, y gracias a su actividad antiséptica, los aceites esenciales son muy usados para problemas de vías respiratorias; para infecciones urinarias; infecciones de la epidermis; en antisépticos bucales y en dentífricos. Además, tienen muchas propiedades saludables como las de ser antiinflamatorios, analgésicos, antibacterianos, antiespasmódicos, entre otras. En términos generales los aceites esenciales se emplean contra enfermedades y en aromaterapia, se utilizan en la producción de cremas dentales, artículos de tocador y otros.[2]

Propiedades farmacológicas de los aceites esenciales Los aceites esenciales llegan a ser tan medicamentos como lo pueden ser los alcaloides, los antibióticos o las enzimas. Igualmente se debe tener en cuenta que algunas pueden ser muy peligrosas si no se manipulan con criterio profesional, en la forma, dosis y circunstancias apropiadas.

Propiedad antiséptica Los aceites esenciales pueden aprovecharse por su poder antiséptico, el cual es general, incluso con composiciones químicas muy distintas, y no disminuye con el tiempo. Esta propiedad se complementa con el poder cicatrizante puesto que estimula la regeneración celular.

Propiedad cicatrizante Soluciones acuosas de aceites esenciales, sobre todo de la familia de las labiadas, facilitan los procesos de reparación de tejidos, además estimulan la cicatrización de llagas y úlceras cutáneas, y previenen infecciones cutáneas.

Propiedad antirreumática, antineuralgica y antiespasmódica Muchos aceites esenciales poseen capacidades antirreumáticas y antineuralgias, útiles en el tratamiento de afecciones dolorosas articulares. Estas actúan incluso si se aplican en forma local, mediante emplastos o masajes, gracias a su gran capacidad de propagación de la piel a los tejidos profundos.

2.5.2 Industria alimentaria y de licores

La industria alimentaria es una de las que mas aceites esenciales requiere. Se encuentran en productos como aceites, vinagres, encurtidos y embutidos. En la confitería se utilizan para saborizar y aromatizar productos como caramelos y chocolates. También se utilizan en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, en refrescos y helados. Otro de sus usos es como aditivos naturales: saborizantes, colorantes, antioxidantes o conservantes.

2.5.3 Industria cosmética y de perfumería

En los productos cosméticos, los aceites esenciales no solo se emplean para proporcionar un aroma, si no que se aprovechan sus propiedades aromaterapéuticas. Esta industria también se aprovecha el efecto antiséptico de los aceites esenciales, donde se llega producir desodorantes elaborados exclusivamente con estos productos naturales.

Por otro lado, los aceites esenciales fueron pilares de la perfumería hasta comienzos del siglo XX, que gracias a la química moderna se sintetizaron la mayoría de las fragancias. Se estima que en la actualidad, el 85 % de las sustancias aromatizantes empleadas en la industria del perfume y los cosméticos son productos de síntesis de laboratorio y se emplean en jabones, ambientadores y productos de baño. El 15 % restante corresponde a productos naturales o aceites vegetales, extraídos de plantas aromáticas.[2]

2.5.4 Industria Fitosanitaria

Los aceites y los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acarici-das, desodorizantes y desinfectantes.[2] Ejemplo: koa (satureja boliviana).

2.6 Análisis de aceites esenciales

2.6.1 Cromatografía

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diversos métodos, que permite a los científicos separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios. En todas las separaciones cromatograficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido super-crítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie solida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen

débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente.

2.6.2 Cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas

La espectrometría de masas (MS) puede definirse como el estudio de sistemas a través de la formación de gases iones, con o sin fragmentación, que se caracterizan entonces por sus relaciones masa-carga (m/z) y las abundancias relativas. El analito puede ser ionizado térmicamente, por un campo eléctrico o por impacto electrones energéticos, iones o fotones.

Durante la última década, ha habido un aumento en la popularidad de los espectrómetros de masas como herramienta para los experimentos analíticos de rutina y la investigación fundamental y avanzada. Esto se debe a un número de características que incluyen costo relativamente bajo, simplicidad de diseño y adquisición de rangos de datos extremadamente rápida. Aunque la muestra es destruida por el espectrómetro de masas, la técnica es muy sensible y sólo se utilizan en el análisis bajas cantidades de material.

Además, el potencial de la cromatografía de gases combinada-espectrometría de masas (GC-MS) para determinación de compuestos volátiles, contenidos en muestras de aroma y fragancia muy complejas, está bien conocido. La subsecuente introducción de sistemas de adquisición y procesamiento de datos de gran alcance, técnicas automatizadas de búsqueda de bibliotecas, asegura que el contenido informativo de los datos generados por los instrumentos GC-MS se aprovecharon plenamente. La identificación más frecuente y simple método en GC-MS consiste en la comparación de los espectros de masa desconocida adquirida con los contenidos en una biblioteca de MS de referencia.

Un espectrómetro de masas produce una enorme cantidad de datos, especialmente en combinación con muestras de muestras cromatográficas. A lo largo de los años, muchos enfoques para el análisis de datos de GC-MS han sido propuestos utilizando varios algoritmos, muchos de los cuales son bastante sofisticados, en esfuerzos para detectar, identificar y cuantificar todos los picos cromatográficos. Los algoritmos de búsqueda de bibliotecas son comúnmente suministrados con sistemas de datos de espectrómetros de masas con el fin de ayudar en la identificación de compuestos desconocidos.

Sin embargo, como es bien conocido, compuestos tales como isómeros, cuando se analizan por medio de GC-MS, puede ser identificado incorrectamente; un inconveniente que se observa a menudo en el análisis de aceite esencial. Como es ampliamente reconocido, la composición de aceites esenciales está representada principalmente por terpenos, que generan espectros de masas muy similares; por lo tanto, un factor de coincidencia favorable no es suficiente para la identificación y la asignación de pico se convierte en una tarea difícil, si no impracticable.

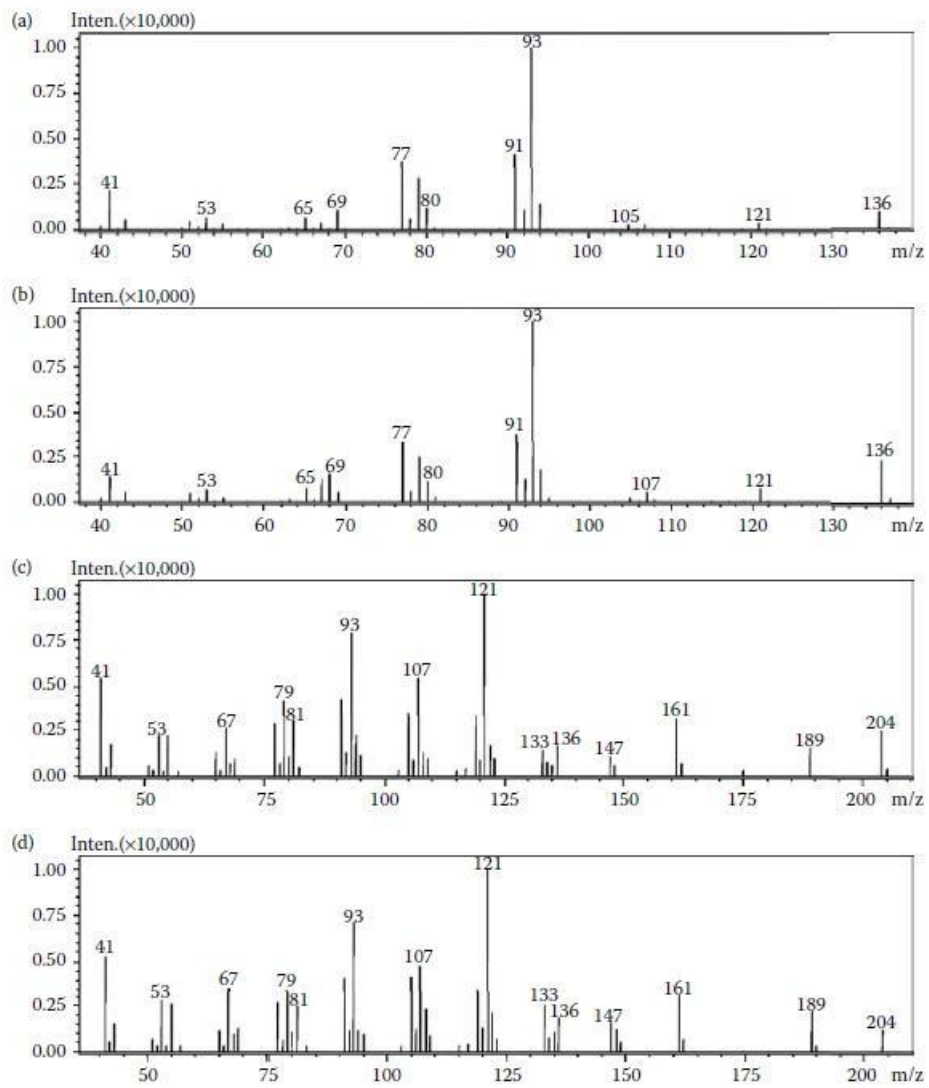


Figure 2.7: Representación del espectro de monoterpénos: sabinene (a) y α -phellandrene (b); y sesquiterpénos; bicyclogermacrene (c) y germacrene B (d)

2.7 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos viscosos semivolátiles, obtenidos de material vegetal. [7] Antiguamente, los aceites esenciales se estudian solamente desde el punto de vista aromático y como saborizantes. Sin embargo, en años recientes, los aceites esenciales y sus componentes químicos han ganado un creciente interés debido a su posible uso como agentes antimicrobianos y antioxidantes.[8]

Si bien las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales han sido reconocidas durante años; hoy en día, debido a la gran demanda y a los cambios de legislación por alimentos seguros y de buena calidad, los aceites esenciales parecen una alternativa natural para conservación de alimentos y elaboración de nuevos fármacos. En la actualidad, la mayoría de los estudios ha encontrado que los aceites esenciales son efectivos tanto en su fase vapor como en contacto directo contra numerosas bacterias patógenas Gram + y Gram -, así como contra mohos, levaduras e incluso algunos mohos productores de micotoxinas. En la misma línea, recientes investigaciones han reportado que dichas propiedades se deben principalmente a los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, siendo monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos los posibles responsables de las propiedades aromáticas, antioxidantes y antimicrobianas de los aceites esenciales.[6]

Es por eso, que diversos investigadores mencionan que la actividad antimicrobiana depende principalmente de tres características: el carácter hidrófilo o hidrófobo del aceite esencial, los componentes químicos presentes y el tipo de microorganismo al que debe atacar. [10] El carácter del aceite esencial podría indicar si este tiene la capacidad de alterar y penetrar en la estructura lipídica de la membrana celular del microorganismo. lo que conduce a la desnaturalización de las proteínas y la destrucción de la membrana celular, haciéndola más permeable, terminando en ruptura o fuga del material del citoplasma, lisis celular y por ende, en la muerte del microorganismo.

Como se mencionó anteriormente, existe una relación directa entre los componentes químicos presentes y la efectividad de los aceites esenciales. Esto supone que la presencia de un componente mayoritario de un aceite esencial, tanto en una atmósfera controlada como en un alimento, es la principal responsable de la acción antimicrobiana del aceite esencial.[9]

Capítulo 3

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1 Ubicación geográfica de recolección de la Amamaytola

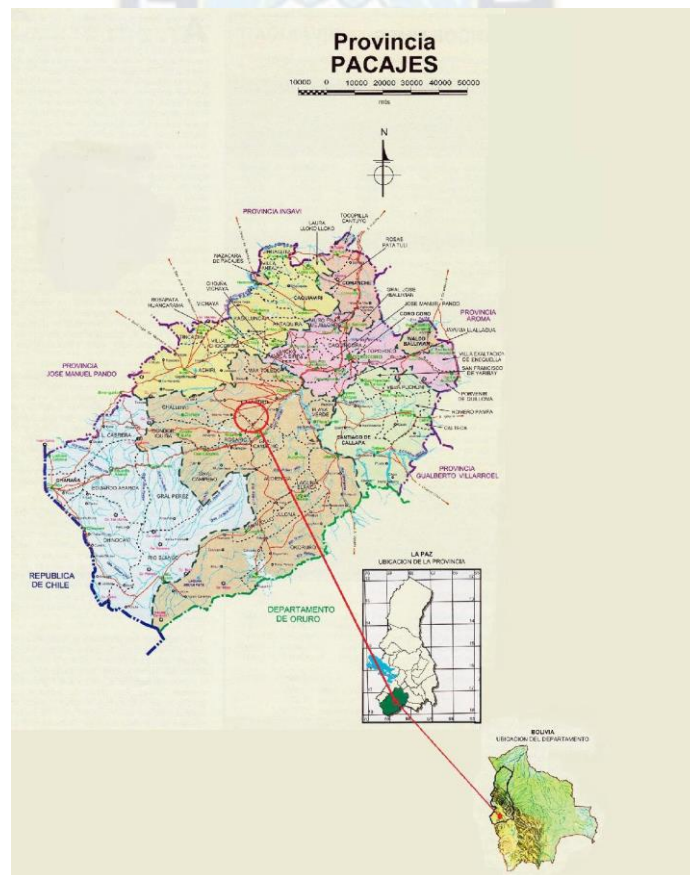


Figure 3.1: Ubicación geográfica de la recolección de la planta Amamaytola

Cada viaje tiene una duración de aproximadamente 5 horas cada uno (ida y vuelta) a la Estancia Karkapata y Callanca, Comunidad Copacati de la Provincia Pacajes, ubicada en el Sur de la ciudad de La Paz, a una altitud de 3800 a 4200 metros sobre el nivel del mar y una temperatura ambiente de 17°C.



Figure 3.2: Imagen satelital de la recolección de la Amamaytola

3.1.1 Recolección de la Amamaytola

La humedad disminuye al finalizar la mañana, por lo cual se recolecta manualmente de horas 11:30 a 13:30 evitando aplastar las hojas.



Figure 3.3: Recolección de la planta Amamaytola

3.2 Tratamiento de la muestra vegetal

Para asegurar la calidad del aceite esencial extraído de la Amamaytola se somete a la planta a tratamientos de limpieza, selección y secado.

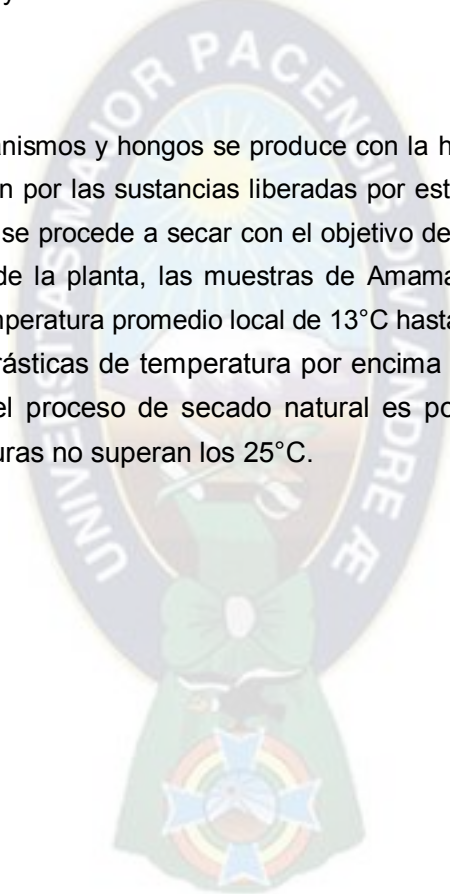
3.2.1 Selección

Las muestras vegetales recolectadas en buen estado son apartadas de las secas o con alguna plaga u hongo, por otro lado se quita hojas y tallos dañados de acuerdo a su tamaño y finalmente las hojas, tallos y raíces son divididos.

3.2.2 Secado

El crecimiento de microorganismos y hongos se produce con la humedad, estos causan deterioro de la planta y contaminación por las sustancias liberadas por estos microorganismos, para evitar este tipo de inconvenientes se procede a secar con el objetivo de reducir la cantidad de humedad concentrada en el cuerpo de la planta, las muestras de Amamaytola se secan naturalmente al ambiente bajo sombra a temperatura promedio local de 13°C hasta masa constante.

En condiciones mas drásticas de temperatura por encima de los 40°C surgen problemas de degradación, durante el proceso de secado natural es poco probable que se produzca debido a que las temperaturas no superan los 25°C.



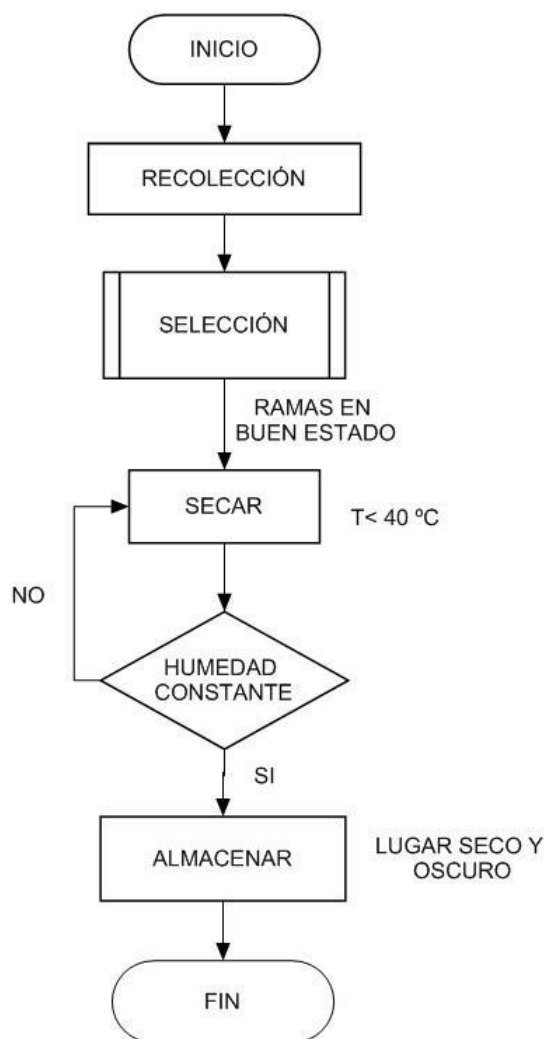


Figure 3.4: Procedimiento del tratamiento de la Amamaytola

3.3 Metodología para la caracterización de la planta Amamaytola

Posterior a la adecuación de la muestra vegetal, en instalaciones Instituto de Investigación y Desarrollo de Procesos Químicos (IIDEPROQ) se determina: humedad, cenizas y lípidos contenidos en la planta de Amamaytola.

3.3.1 Contenido de humedad

La humedad es una variable directamente relacionado con el tiempo de secado, para el determinar la cantidad de agua contenida en la Amamaytola, se utiliza la metodología descrita en

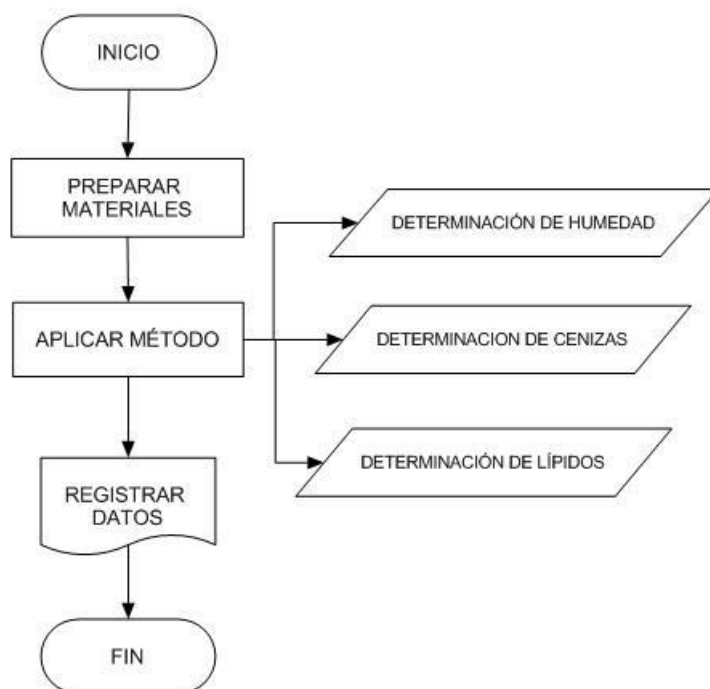


Figure 3.5: Diagrama de flujo para caracterización

el Apéndice C. Para el efecto, se emplea tanto la balanza de humedad como el método gravimétrico.

3.3.2 Contenido de Cenizas

El contenido de sales minerales o en materia inorgánica de la muestra, en condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir posibles falsificaciones, utilizando la metodología descrita en el Apéndice C se determina su valor.

3.3.3 Contenido de Lípidos

Los lípidos extraíbles pueden ser ácidos grasos libres, acilgliceridos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras, carotenoides y clorofilas. Mediante el método de extracción detallado en el Apéndice C utilizando como disolvente éter de petróleo se determina el porcentaje en masa de lípidos contenido en la Amamaytola.

3.4 Arreglo experimental

El equipo de arrastre de vapor a escala laboratorio (adquirido con recursos propios) con un valor de aproximado de 7000 bolivianos, tal como se detalla en el Apéndice A y se instala en instalaciones propias para las pruebas experimentales.

Para el desarrollo de las pruebas experimentales el equipo se opera según a las especificaciones técnicas y la seguridad necesaria descrita a continuación.



Figure 3.6: Equipo adquirido para la extracción de Aceite esencial para Amamaytola

Seguridad

- Se debe evitar salpicaduras de líquidos más aún si son inflamables.
- Siempre utilizar el equipo en conjunto con un regulador de potencia.
- Mantener lejos de sustancias inflamables.
- Después de algún tiempo de calentamiento el recipiente puede alcanzar temperaturas muy elevadas, se manipula con cuidado.

3.4.1 Descripción del equipo

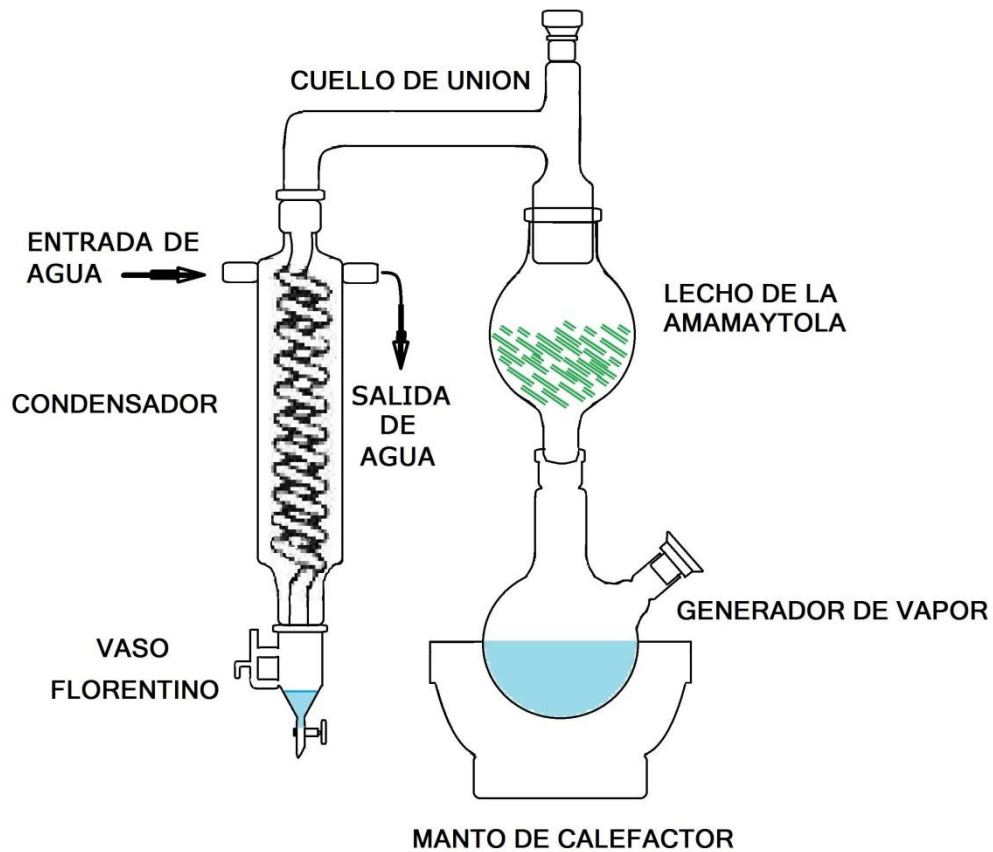


Figure 3.7: Partes del equipo de extracción

Manto calefactor

El manto calefactor de procedencia brasileña FISATOM tiene un regulador con escala graduada de modo que se puede regular la energía mediante un potenciómetro, es recomendable utilizar al 50 % de la misma ya que si comienza a trabajar en máximo esta ira acortando el tiempo de vida, si trabaja a la mitad del rendimiento una vez alcanzada la ebullición tendrá que ir bajando gradualmente el control ya que se evaporara rápidamente el agua de evaporación que tiene que acompañar con un flujo regulado de agua de condensación en el refrigerante.

Especificaciones técnicas

Tensión de trabajo: 230 V AC

Precisión de la tensión: 0.05 V

Frecuencia: 50 o 60 Hz.

Temperatura de funcionamiento: hasta 300°C

Potencia: 480 W

Caldera y Depósito de materia vegetal

La caldera es un balón similar a un matraz fabricado de boro silicato 3.3, con capacidad de 2 litros, con dos bocas esmeriladas. La primera directamente conectada al depósito de materia vegetal y la segunda para el control de temperaturas.

El depósito es un balón similar a la caldera de 1 litro de capacidad fabricada de boro silicato 3.3 con dos aperturas esmeriladas, apertura inferior que se une a la caldera y la superior que se une al cuello de unión la cual transporta el vapor con el aceite esencial.

Cuello unión

Fabricado de material borosilicato 3.3 en forma de U con juntas esmeriladas, conecta al depósito con la muestra vegetal de la materia vegetal con el condensador, además dirige la mezcla vapor-aceite esencial. La toma de temperatura se la realiza en el esmerilado pequeño por encima del cabezal que tiene el brazo largo lateral.

Condensador

El condensador donde se produce un cambio de fase vapor-líquido, donde el agua recircula por el serpentín y parte de la chaqueta puesto que se genera más presión al momento de la destilación, ya que el vapor tiene que vencer el peso de la gravedad de todos los anillos del serpentín.

Manguera

Se emplea para alimentar agua en la entrada y evacuar en la salida del condensador.

Colector o vaso florentino

La función del colector es recepcionar el destilado que se obtiene de la evaporación, como la mayor parte de lo que se obtiene es agua destilada, esta se va acumulando en el tubo central del vaso florentino que tiene una llave, misma que tiene que estar cerrada, el agua por rebalse ira descartándose por el tubo lateral del vaso florentino, quedando en el centro el residuo de aceite o esencia de la muestra.

Termocupla

Se usa para medir la temperatura, conectado en el esmerilado pequeño por encima del cabezal (cuello de unión) instalado durante el proceso de extracción.

Otros dispositivos

También se utilizan accesorios y materiales como probetas, pinzas nuez, soporte universal, cronometro, vasos de precipitado, balones. Por otro lado también se tiene algunos instrumentos como termómetros y balanzas.



3.5 Proceso de extracción del aceite esencial de la Amamaytola

La extracción de aceite esencial de la Amamaytola sigue la metodología que se muestra en la Figura 3.8.

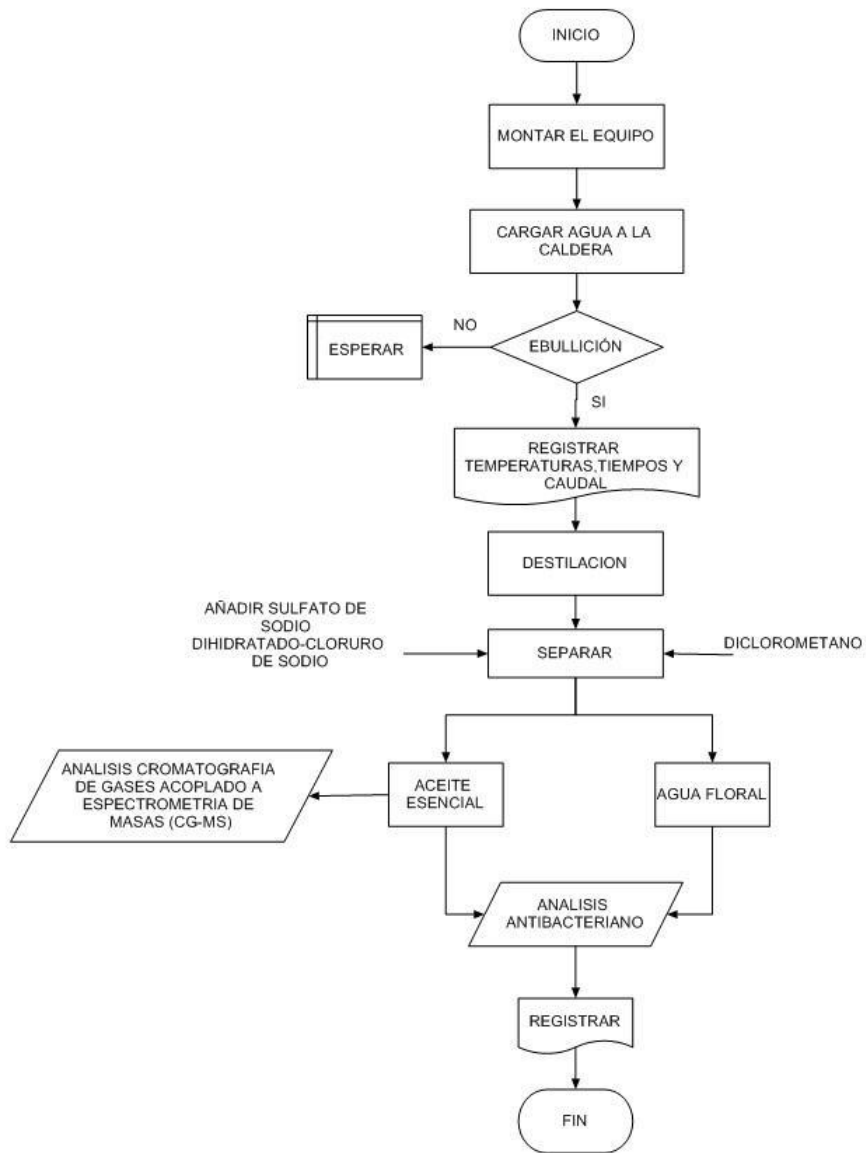


Figure 3.8: Metodología para la Obtención de Aceite esencial de la Amamaytola

3.5.1 Rendimiento del proceso de extracción

La cantidad de aceite esencial de Amamaytola obtenido respecto de la masa inicial de Amamaytola cargada, define el rendimiento del proceso de extracción, lo cual esta en función de las variables: cantidad de materia vegetal, humedad, tiempo de extracción y tamaño de partícula, que se determina mediante la siguiente ecuación:

$$R[\%] = \frac{m_{as}}{m_{Amamaytola}} 100\%$$

3.6 Diseño Experimental

3.6.1 Diseño factorial 2^k

Para determinar como las variables influyen en el proceso de extracción de aceite esencial de Amamaytola y medir su efecto en el rendimiento del aceite esencial, se utiliza la metodología de diseño experimental apoyada por el programa DesignExpert que es un software estadístico dedicado específicamente para realizar el diseño de experimental.

El tipo de diseño que se utiliza en el presente proyecto es del tipo factorial 2^2 , donde se analiza las posibles combinaciones entre los factores estudiados tamaño de las hojas y tiempo, con una replica para cada combinación.

- Tamaño de partícula
- Tiempo del proceso

Otras variables tomadas en cuenta inicialmente son cantidad de materia prima y humedad.

3.6.2 Cantidad de materia vegetal

En virtud de la capacidad del depósito la cantidad de materia vegetal puede variarse, si la cantidad es demasiado grande existe la posibilidad de apelmazamiento y el vapor generado no atraviesa por todas las hojas de la materia vegetal lo que resulta un rendimiento bajo del aceite esencial y un desperdicio en la materia vegetal. Se hace varias pruebas con diferentes cantidades de 30,50,70 y 100 gramos.

3.6.3 Humedad de la muestra vegetal

La masa de la materia vegetal es variable, si se recolecta fresca la planta tiene bastante cantidad de agua, cantidad que se reduce después del secado, permitiendo concentrar la cantidad de aceites esenciales, por lo que en este trabajo este parámetro no se toma en cuenta debido a factores ambientales.

3.6.4 Tiempo del proceso

El tiempo es un factor directamente relacionado con el consumo de energía, en vista que el proceso requiere de una cantidad suficiente para llevar a cabo la destilación, un tiempo mayor genera gastos por concepto de consumo de energía, además que en un tiempo demasiado largo varía la composición del aceite esencial incluso destilando otros compuestos no deseado. Es así, que en un tiempo adecuado se obtienen un aceite de calidad.

El tiempo del proceso de destilación es medido a partir de la aparición de la primera gota de condensado, a medida que el proceso transcurre. Por otro lado, se mide el tiempo de calentamiento con un cronómetro desde la carga a la caldera de agua hasta que se condense la primera gota en el florentino.

3.6.5 Tamaño de las hojas

La reducción de tamaño de las hojas aumenta el área de superficie de contacto, para lo cual se utiliza un conjunto de tamices para encontrar el tamaño adecuado.

Tabla 3.1: Tamiz ASTM

N ^o de tamiz	Apertura (mm)
4	4,75
8	2,36
12	1,70
16	1,18

Fuente: Datos obtenidos en el Tamiz

3.7 Prueba de actividad antimicrobiana

3.7.1 Materiales y Reactivos

- Autoclave
- Mecheros Bunsen
- Estufa de incubación
- Balanza
- Agar Sangre
- Placas Petri
- Asas de siembra

- Micropipeta
- Alcohol etílico 96°G.L.

Mediante la metodología descrita en la Figura 3.8 es realizada la prueba antimicrobiana, utilizando agar sangre como medio de cultivo e inculo la muestra piel de la papaya enferma adquirida del mercado local. El etanol es usado para comparar el efecto bactericida del aceite esencial disuelto en el agua floral sobre el crecimiento de los microorganismos.

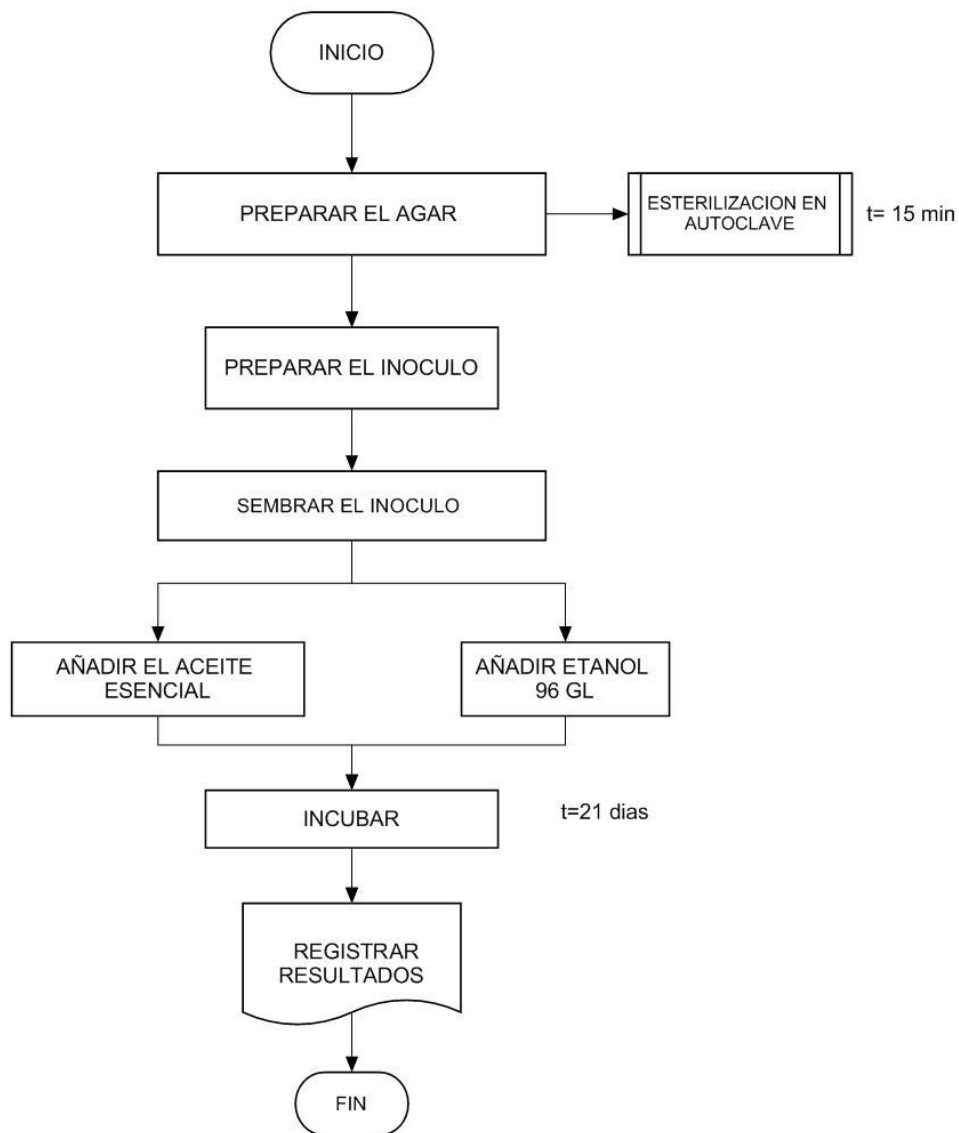


Figure 3.9: Metodología de evaluación antimicrobiana

3.8 Análisis del aceite esencial por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-MS

Para el análisis se utiliza los siguientes materiales y reactivos:

- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas marca SHIMADZU QP2020
- Hexano 95%
- Micropipetas de 10, 5 y 1 ml
- Matraz
- Viales

La muestra de aceite esencial de Amamaytola se prepara con hexano en un vial para inyectar en el cromatógrafo donde se ionizan los componentes y conforme pasa a través de la columna se separan del cual resulta un cromatograma.



Figure 3.10: Equipo CG-MS SHIMADZU QP2020 utilizado en la determinación del principio activo

Capítulo 4

ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 Recolección de la Amamaytola

La muestra vegetal se recolecta durante los meses de julio hasta mediados de noviembre justo antes de que empiece a florecer, posteriormente se traslada desde el lugar de origen a instalaciones propias. Asimismo, la muestra es adecuada durante un mes para emplearlo en la obtención de aceite esencial.



Figure 4.1: Recolección de la Amamaytola

Se utiliza aquellas hojas que están en buenas condiciones.



Figure 4.2: Selección de la Amamaytola

4.1.1 Taxonomía de la Amamaytola

Los resultados obtenidos de las muestras enviadas al Herbario Nacional de Bolivia (Apendice B) para determinar el nombre de la especie indican lo siguiente:

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Petunioideae
Género	Fabiana
Especie	Fabiana densa R.

Tabla 4.1: Taxonomía de la Amamaytola

La Amamaytola es una planta endémica de Bolivia.

La familia solanaceas se caracteriza por contar con muchas especies que contienen diversos tipos de alcaloides, las plantas que contienen estas sustancias han sido utilizadas durante siglos como venenos, No obstante, muchas de estas sustancias presentan propiedades farma-céuticas.¹

¹Zeiger E. Solanine and Chaconine. Review of Toxicological Literature. USA: Integrated Laboratory Systems;1998

4.1.2 Secado de la Amamaytola

Los valores del contenido de humedad de la Amamaytola medida por la balanza de humedad se muestran a continuación:

Tabla 4.2: Disminución del porcentaje de humedad en la Amamaytola en el tiempo

Tiempo [días]	H[%]
1	40.79
3	36.78
7	26.50
14	10.12
30	9.02
35	9.05
45	9.07

Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.3 muestra la rapidez de la pérdida de agua de la planta de Amamaytola hasta masa constante.

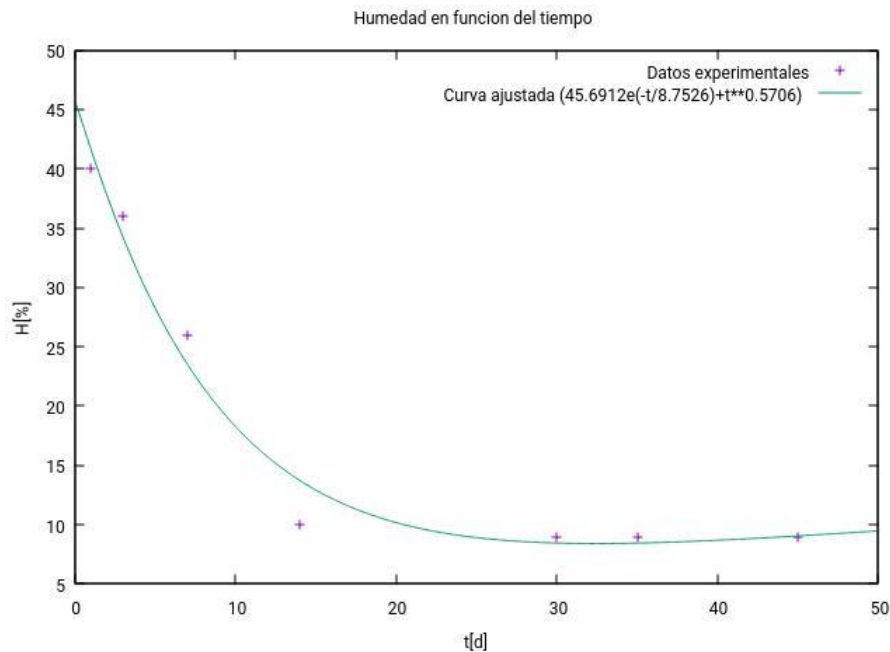


Figure 4.3: Muestra los datos obtenidos de la variación humedad en función del tiempo

Fuente: Elaboración propia

Como se observa el porcentaje de humedad disminuye rápidamente desde el día uno hasta el día catorce posteriormente mantiene un valor constante aproximadamente de 9 % . La bibli

ografía indica que para una buena conservación el valor del porcentaje de la humedad debe ser inferior al 10 %.

4.2 Caracterización de la Amamaytola

4.2.1 Determinación de la Humedad

Tabla 4.3: Datos para la determinación de humedad

N ^o Prueba	M1[g]	M2[g]	M3[g]
1	19.8931	21.9558	21.7305
2	18.9197	20.9599	20.8078

Fuente: Elaboración Propia

A través del procedimiento del apéndice C, el porcentaje promedio de contenido de humedad determinado en la Amamaytola es de 9.2882 % valor bastante próximo al resultado obtenido a través de la balanza de humedad 9.07 %.

Tabla 4.4: Contenido en porcentaje de humedad en la Amamaytola

N ^o Prueba	H[%]
1	10.9226
2	7.4551
Promedio	9.2882

Fuente: Elaboración propia

Donde:

M1: Masa de la caja Petri [g]

M2: Masa inicial de la caja Petri con muestra de Amamaytola [g]

M3: Masa final de la caja Petri con muestra seca de Amamaytola [g]

H: Cantidad de humedad contenida en la muestra en porcentaje [%]

4.2.2 Determinación de Cenizas

El residuo inorgánico que queda tras eliminar totalmente los compuestos orgánicos representa el contenido total de minerales, siguiendo el procedimiento descrito en el apéndice C, la cantidad de minerales en las cenizas varía en las distintas partes de la planta hojas y tallos, en la Amamaytola el contenido de cenizas es mayor en las hojas que en tallos. Los resultados se detallan a continuación:

Tabla 4.5: Datos experimentales para cálculo de cenizas en las hojas de Amamaytola

N ⁰ Prueba	C ₀ [g]	C ₁ [g]	C ₂ [g]
1	22.1151	24.2067	22.1873
2	21.5053	23.5235	21.5743

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.6: Porcentaje de cenizas en hojas de Amamaytola

N ⁰ Prueba	C[%]
1	3.4519
2	3.4189
Promedio	3.4254

Fuente: Elaboración propia

Paralelamente se determina la cantidad de cenizas en los tallos:

Tabla 4.7: Datos experimentales para cálculo de cenizas en los tallos de Amamaytola

N ⁰ Prueba	C ₀ [g]	C ₁ [g]	C ₂ [g]
1	22,1148	24,1275	22,1454
2	23,2604	25,3019	23,295

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 4.8: Porcentaje de cenizas en tallos de Amamaytola

N ⁰ Prueba	C[%]
1	1,5203
2	1,6948
Promedio	1,6076

Fuente: Elaboración propia

Donde:

C₀: Masa del crisol vacía [g]

C₁: Masa inicial del crisol con la muestra de Amamaytola [g]

C₂: Masa final del crisol con la muestra incinerada de Amamaytola [g]

C: Porcentaje de cenizas [%]

Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%, el contenido de minerales en la Amamaytola por calcinación en una mufla a 550°C los resultados son 3,42% y 1.61 % en hojas y tallos respectivamente, valores que se encuentran dentro del parámetro y además el contenido de minerales es el doble en las hojas que en los tallos.

4.2.3 Determinación de Lípidos

En base a la metodología mencionada en el Apéndice C se la siguiente tabla:

Tabla 4.9: Datos experimentales obtenidos para la determinación de lípidos en la Amamaytola

N ^o prueba	m [g]	m1[g]	m2[g]
1	3.0321	117.7867	118.2739
2	4.4071	81.9720	82.676

Fuente: Elaboración propia

Empleando la ecuación del Apéndice C para el cálculo del porcentaje de lípidos se obtiene los siguiente resultados:

Tabla 4.10: Porcentaje de lípidos en la Amamaytola

N ^o Prueba	G[%]
1	16.0681
2	15.9742
Promedio	16.0212

Fuente: Elaboración propia

Donde:

m: Masa de la muestra total [g]

m1: Masa del matraz [g]

m2: Masa del matraz con grasa [g]

G: Porcentaje de lípidos en la muestra [%]

Los lípidos proveen de triglicéridos (glicerol y ácidos grasos), fosfolípidos y esteroides, los resultados muestran que la Amamaytola contiene un porcentaje importante de 16.02% debido a la gran cantidad de resina que se observa, estos lípidos representan la forma más concentrada de calorías.

4.3 Proceso de extracción de aceite esencial

Realizadas varias pruebas, para el proceso de extracción de esencial de Amamaytola se ha considerado los siguientes factores:

- Masa de la muestra vegetal m [g]
- Tiempo de extracción t [min]
- Humedad de muestra vegetal H [%]
- Tamaño de partícula T_p [mm]

4.3.1 Rendimiento en función de la masa de Amamaytola

Las condiciones iniciales son:

Humedad de la muestra $H = 9$ [%]

Tiempo de extracción $t = 180$ [min]

Temperatura ambiente $T_a = 14^\circ\text{C}$

Después del proceso de extracción de aceite esencial se obtiene los siguientes resultados:

Tabla 4.11: Variación del rendimiento en función de la masa de Amamaytola

m [g]	R [%]
30	0.0989
50	0.1023
70	0.1037

La figura muestra el comportamiento de los resultados:

Al incrementar la masa de la muestra se puede observar que el rendimiento aumenta, pero llega un estado donde ya no puede incrementar la masa debido a la capacidad del recipiente.

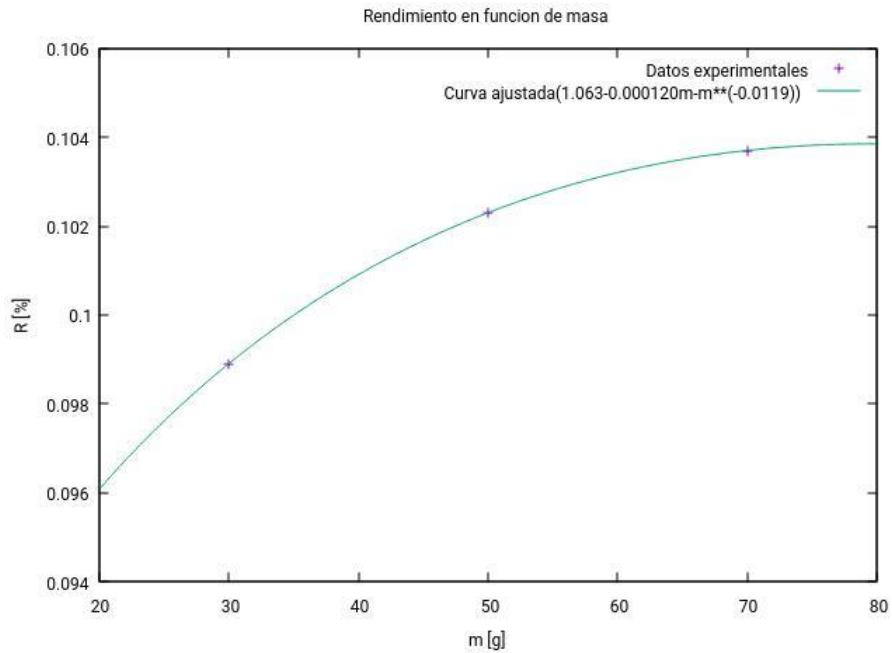


Figure 4.4: Muestra datos experimentales del rendimiento en función de la masa

4.3.2 Rendimiento en función del tiempo

Para:

m= 50 [g]

H = 9 [%]

TP = 22 mm

Tabla 4.12: Variación del rendimiento en función del tiempo

t[min]	R[%]
60	0.0706
120	0.1029
180	0.1075

Fuente: Elaboración propia

El tiempo transcurre y paralelamente el rendimiento incrementa, pero a partir de cierto instante la cantidad de aceite esencial obtenido se mantiene relativamente constante, debido a esto no es necesario seguir con el proceso de extracción de aceite esencial.

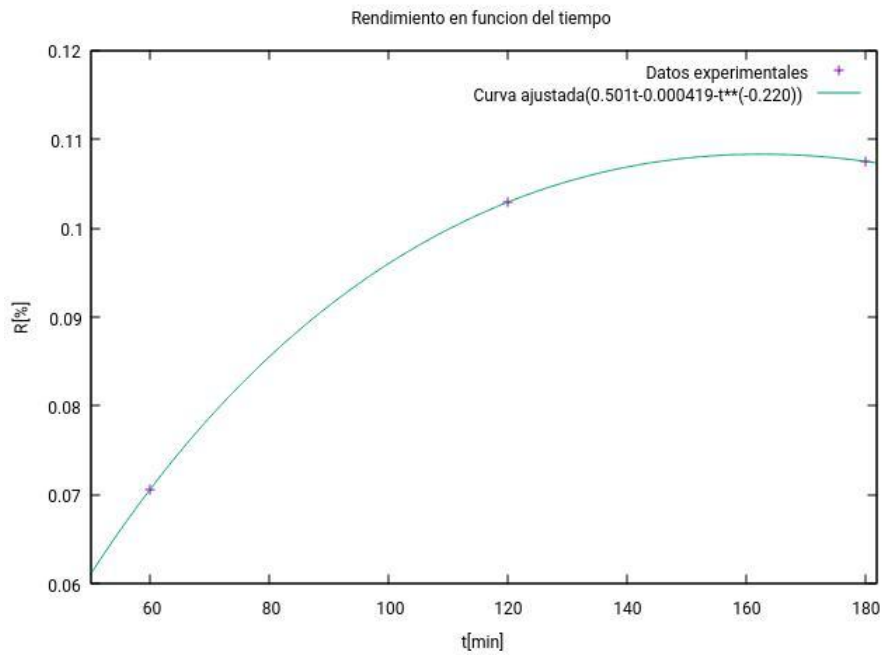


Figure 4.5: Muestra datos experimentales del rendimiento en función del tiempo

4.4 Rendimiento en función del tamaño de partícula

Para:

m= 50 [g]

H= 9 [%]

t= 180 [min]

Tabla 4.13: Variación del rendimiento en función del tamaño de partícula

Tp[mm]	R[%]
26	0.1023
22	0.1152
11	0.1275

Fuente: Elaboración propia

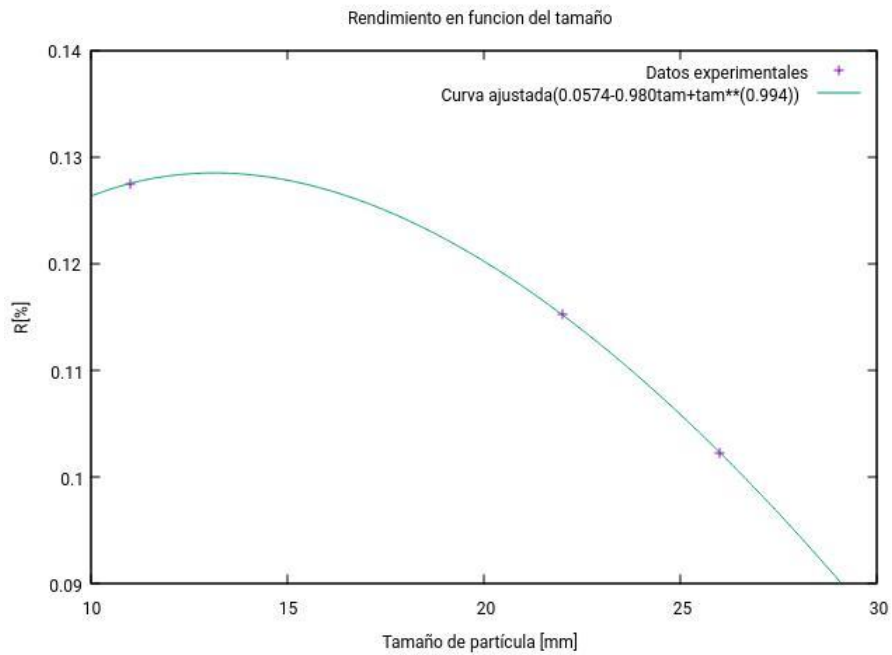


Figure 4.6: Muestra datos experimentales del rendimiento en función del tamaño de partícula
Fuente: Elaboración propia

En la figura se observa que rendimiento incrementa mientras mas pequeña sea la partícula.

4.4.1 Factores del proceso de extracción de Aceite esencial de la Amamay-tola

Con los resultados de las pruebas previas de masa mínima (m_{min}) y masa máxima (m_{max}) obtenemos los niveles de cada uno de los factores:

Tabla 4.14: Niveles de masa

$m_{min}[g]$	$m_{max}[g]$
30	50

Fuente: Elaboración propia

La humedad mínima (H_{min}) y humedad máxima (H_{max}) se indican en la siguiente tabla:

Tabla 4.15: Niveles de la humedad

$H_{min}[\%]$	$H_{max}[\%]$
9	30

Fuente: Elaboración propia

El tiempo mínimo (t_{\min}) y tiempo máximo (t_{\max}) se tiene: Para Tamaño mínimo de partícula

Tabla 4.16: Niveles del tiempo

$t_{\min}[\text{min}]$	$t_{\max}[\text{min}]$
60	120

Fuente: Elaboración propia

($T_{p\min}$) y Tamaño máximo ($T_{p\max}$) de la partícula se tiene:

Tabla 4.17: Niveles de tamaño de partícula

$T_{p\min}[\text{mm}]$	$T_{p\max}[\text{mm}]$
11	22

Fuente: Elaboración propia



4.5 Diseño experimental

Con el diseño factorial 2^2 se estudia los efectos principales y efecto de interacción de dos factores (tamaño y tiempo) considerando dos niveles en cada uno con dos réplicas. Para el estudio indicado se introducen los máximos y mínimos de cada variable en el programa computacional estadístico DesignExpert y codificando los mismos tenemos:

Tabla 4.18: Muestra la matriz de diseño y respuesta

Std	Run	Block	Factor 1 A:Tamaño de p mm	Factor 2 B:tiempo min	Response 1 Rendimiento %
4	1	{ 1 }	1.000	-1.000	0.099
7	2	{ 1 }	1.000	1.000	0.1041
3	3	{ 1 }	1.000	-1.000	0.0918
1	4	{ 1 }	-1.000	-1.000	0.0784
6	5	{ 1 }	-1.000	1.000	0.1302
8	6	{ 1 }	1.000	1.000	0.1102
5	7	{ 1 }	-1.000	1.000	0.1339
2	8	{ 1 }	-1.000	-1.000	0.0693

4.5.1 Cálculo de los efectos

En este diseño existen tres clases efectos de interés: los dos efectos principales (A y B) y el efecto interacción (AB).

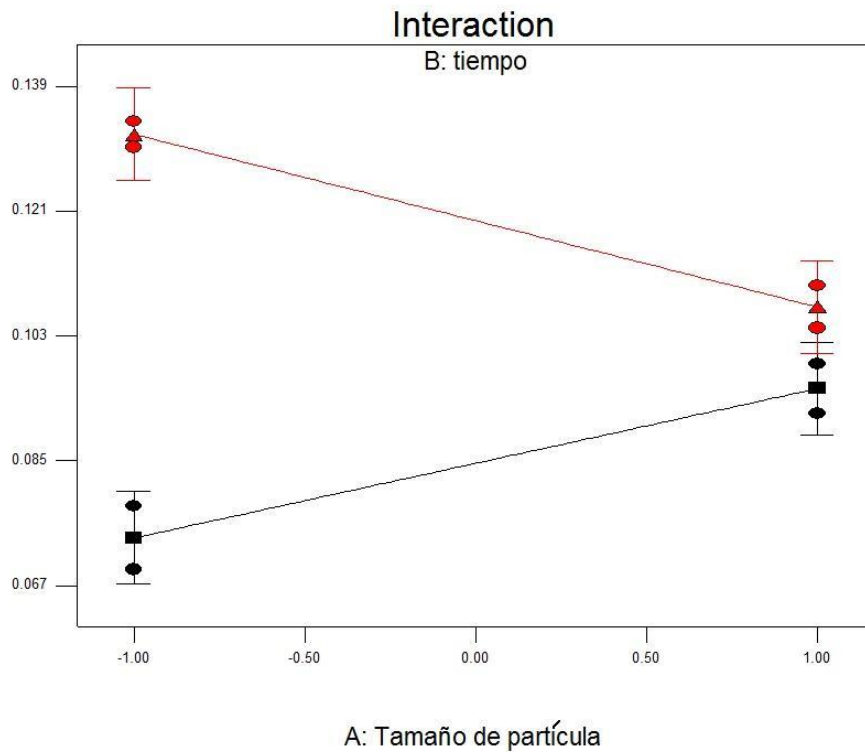


Figure 4.7: Muestra efectos de interacción

4.5.2 Análisis de la varianza (ANOVA)

Para afirmar que los efectos principales y el efecto de interacción contribuyen a explicar el comportamiento de la respuesta, se hace la prueba estadística del análisis de la varianza de diseño factorial mencionado como se muestra en la tabla ANOVA.

Tabla 4.19: ANOVA para el diseño factorial 2²

ANOVA for selected factorial model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	3.531E-003	3	1.177E-003	50.75	0.0012	significant
A-Tamaño de partícula	5.611E-006	1	5.611E-006	0.24	0.6486	
B-tiempo	2.447E-003	1	2.447E-003	105.48	0.0005	
AB	1.079E-003	1	1.079E-003	46.51	0.0024	
Pure Error	9.278E-005	4	2.319E-005			
Cor Total	3.624E-003	7				

A partir de este análisis de la varianza el software DesignExpert genera ecuaciones en

términos de factor codificado y factores reales como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4.20: Ecuación generada por el programa DesignExpert en términos de factor codificado y factores reales

Final Equation in Terms of Coded Factors:

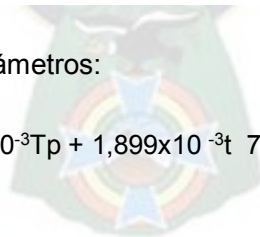
$$\begin{aligned} \text{Rendimiento} = & \\ & +0.10 \\ & -8.375\text{E-}004 * A \\ & +0.017 * B \\ & -0.012 * A * B \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \text{Rendimiento} = & \\ & -0.065950 \\ & +6.80000\text{E-}003 * \text{Tamaño de partícula} \\ & +1.89900\text{E-}003 * \text{tiempo} \\ & -7.74167\text{E-}005 * \text{Tamaño de partícula} * \text{tiempo} \end{aligned}$$

Ecuación en función de los parámetros:

$$R = -0,06595 + 6,80 \times 10^{-3} T_p + 1,899 \times 10^{-3} t - 7,74167 \times 10^{-5} T_p * t$$



4.5.3 Análisis de residuos

Se supone que los residuos se distribuyen varianza constante, normales y independientes. El supuesto de varianza constante se puede verificar graficando los residuos contra los predichos, y los puntos deben caer aleatoriamente en el sentido vertical dentro de una banda horizontal.

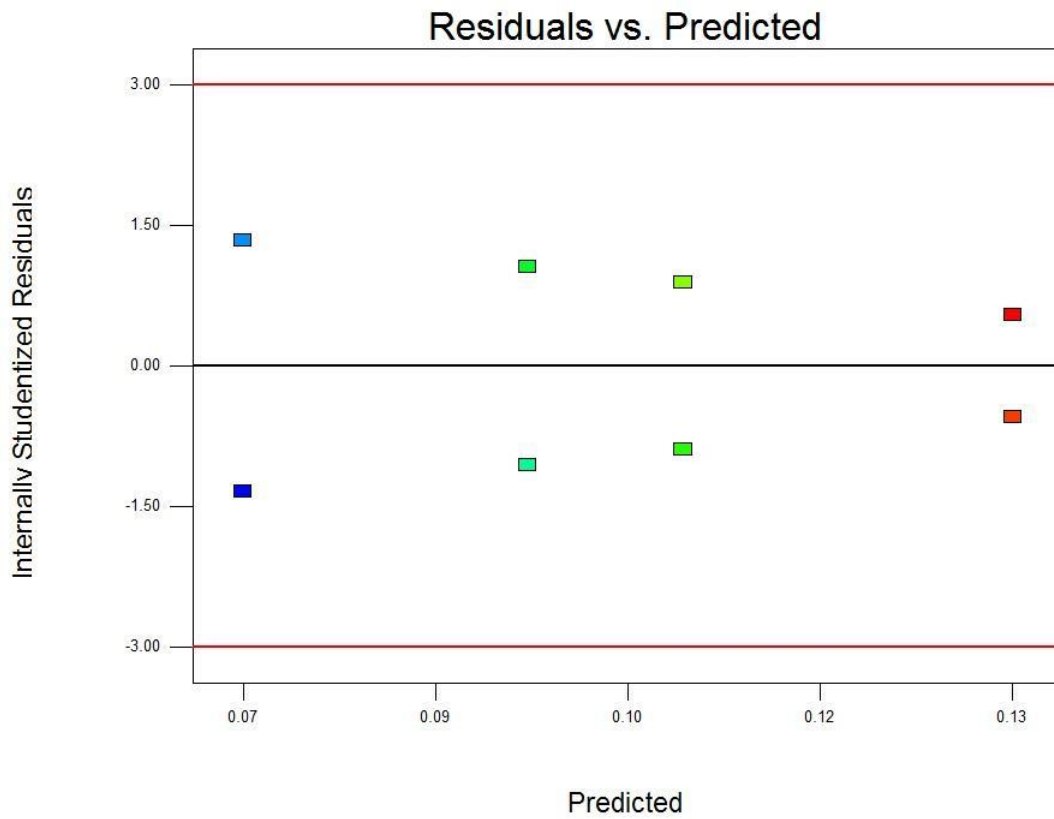


Figure 4.8: Muestra el supuesto de la varianza constante

De acuerdo a la Figura 4.8, el supuesto de varianza constante se cumple, los residuos estan dispersos alrededor de la banda horizontal.

El supuesto de la normalidad se verifica de tal manera que los puntos no estén dispersos con respecto a la línea colocada visualmente (no es línea de regresión) en la gráfica de los residuos en papel probabilístico normal.

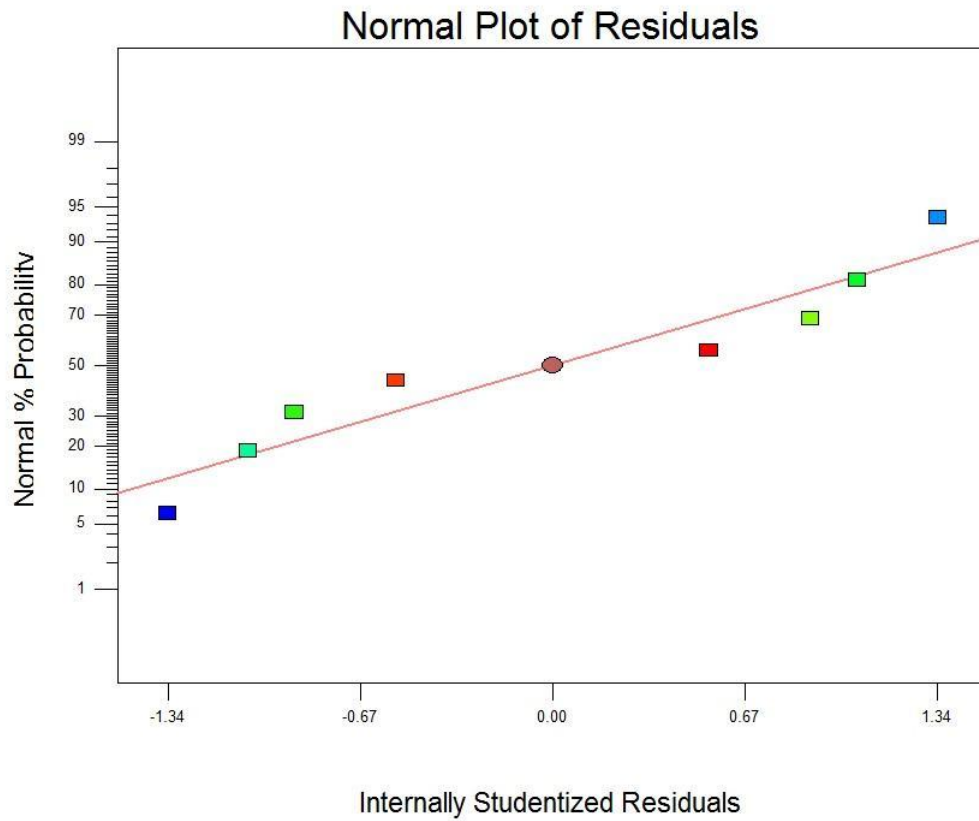


Figure 4.9: Muestra el supuesto de normalidad residuos en función de residuos



Supuesto de independencia requiere capturar en el orden en que fueron obtenidos a fin de que el programa pueda graficar los residuos en función del tiempo u orden de corrida. Al

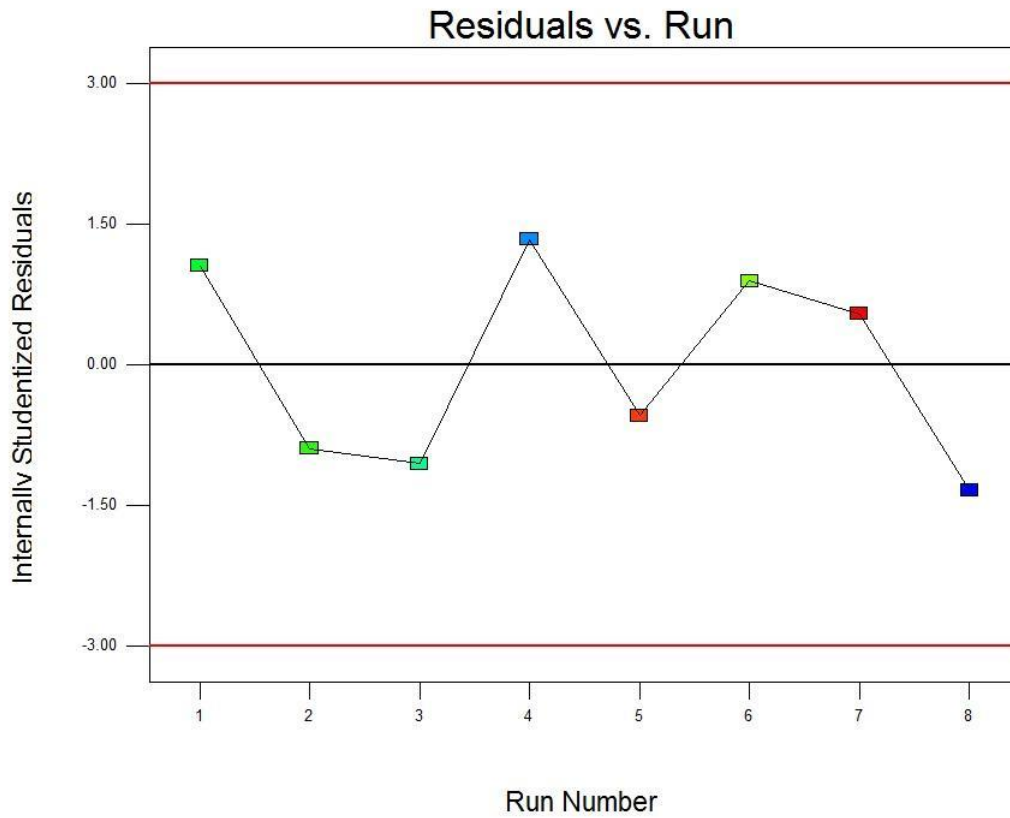


Figure 4.10: Muestra supuesto de la independencia

no visualizarse ninguna tendencia en los puntos (que suban o bajen) se concluye que no hay problema con la declaración de independencia.

4.6 Balance de masa y energía

4.6.1 Balance de masa

Las condiciones iniciales del proceso de extracción del aceite esencial son los siguientes:

$t = 80 \text{ min}$

$T_a = 14^\circ\text{C}$

$H = 9 \%$

$TP = 11 \text{ mm}$

El balance de masa del proceso de extracción de aceite esencial de Amamaytola se detalla a continuación en el siguiente diagrama de flujo:

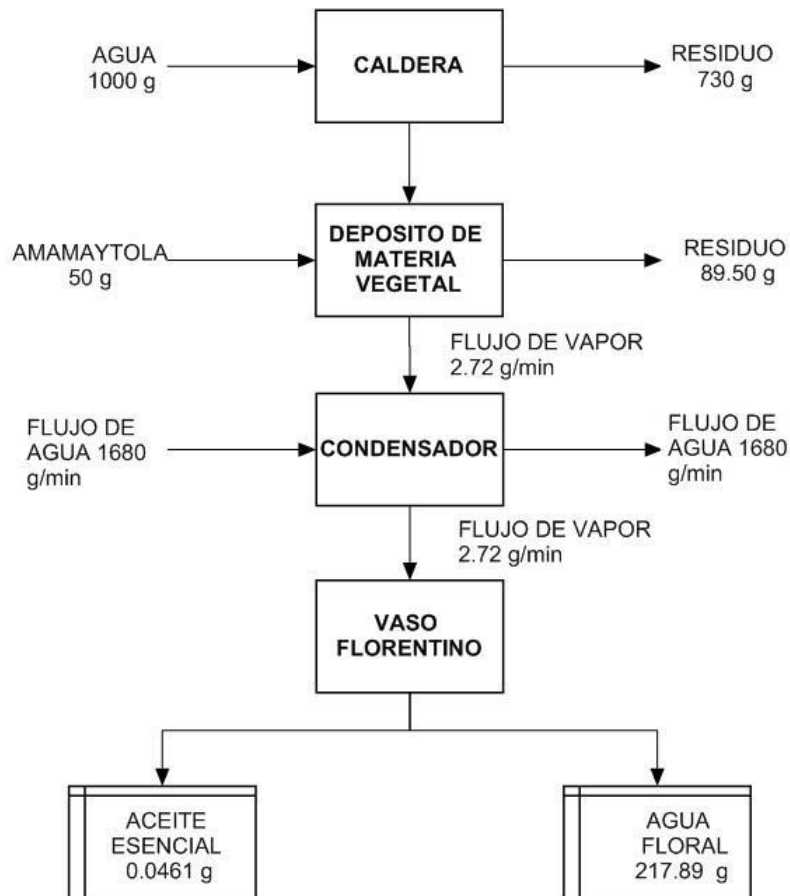


Figure 4.11: Balance de masa del proceso de extracción de aceite esencial de la Amamaytola

$$R = \frac{0.0461 \text{ g}}{50 \text{ g}} * 100\% = 0.0922\%$$

4.6.2 Balance de energía

Mediante las ecuaciones de conservación de energía se analiza cada unidad del proceso.

Energía entregada

Se suministra calor por unidad de tiempo o potencia a través del manto calefactor

$$Q_{ent} = 240W$$

La cantidad de transferencia de calor durante el proceso se determina a partir de

$$Q = Q_{ent} \times 80 \text{ min} \times \frac{60s}{1min}$$

Finalmente

$$Q = 1152KJ$$

Energía generada en la caldera

Los datos obtenidos para el proceso son:

$$m_{H_2O} = 1000g$$

$$C_{pH_2O} = 4,18 \frac{J}{g}$$

$$T_1 = 87^\circ C$$

$$T_0 = 17^\circ C$$

$$H_{H_2O} = 2287,61 \frac{J}{g}$$

La cantidad de energía requerida para calentar el agua cargada (1 Kg) a la caldera es igual a:

$$q_{H_2O} = m_{H_2O} C_{pH_2O} (T_1 - T_0)$$

Calculamos el calor sensible:

$$q_{H_2O} = 1000 g \times 4,18 \frac{J}{g} (87-17)^\circ C$$

$$q_{H_2O} = 292,6KJ$$

Calor necesario para evaporar el agua esta dado por el calor latente producida durante el cambio de fase:

$$Q_{H_2O} = m_{H_2O} H_{H_2O} = (1000 - 730)g(2294,9 \frac{J}{g})$$

$$Q_{H_2O} = 617,66KJ$$

Finalmente la energía total requerida:

$$Q_T = q_{H_2O} + Q_{H_2O}$$

$$Q_T = 910:26KJ$$

Donde:

q_{H_2O} : calor sensible del agua de caldera [KJ]

m_{H_2O} : masa de agua en la caldera [g]

C_{pH_2O} : capacidad calorífica del agua [$\frac{J}{g}$]

T_1 : temperatura final del agua [°C]

T_0 : temperatura inicial del agua [°C]

Q_{H_2O} : calor latente del agua ebullición [J]

H_{H_2O} : entalpía de vaporización [$\frac{J}{g}$]

Caudal de la entrada de agua en el condensador

Se miden en distintos tiempos:

Tabla 4.21: Datos para la medición de caudal

V[ml]	t[s]	q [$\frac{ml}{s}$]
120	5.02	24.00
80	3.27	26.67
115	4.73	28.75
100	4.31	25.00
95	4.09	23.75
100	4.41	25.00
110	4.64	27.50
100	4.24	25.00
110	4.40	27.50
95	3.73	31.67
Promedio		26.48 $\frac{ml}{s}$

Fuente: Elaboración propia

4.7 Características del aceite esencial de la Amamaytola

4.7.1 Propiedades organolépticas

Tabla 4.22: Propiedades organolépticas del aceite esencial de la Amamaytola

Muestra	Aspecto	Color	Olor
Aceite esencial	Líquido viscoso	Amarillo pálido	Característico, penetrante y agradable
Agua floral	Líquido	Transparente opaco	Agradable

Fuente: Elaboración propia

4.8 Prueba de Actividad antimicrobiana

Se hace la prueba de Actividad antimicrobiana de las bacterias y hongos de la piel de Papaya Figura 4.12, y los resultados son los siguientes:






Figure 4.12: Papaya deteriorada por efecto de microorganismos

Tabla 4.23: Respuesta a los hongos de la papaya

Nro	Porcentaje de dilución [%]	Alcohol	Agua floral
1	0	UFC negativo	UFC negativo
2	30	UFC negativo	UFC negativo
3	70	-	UFC negativo

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.24: Prueba Antibacteriana

Bacterias inoculadas	Inhibición del Aceite esencial	Inhibición con alcohol etílico
		
Se observa bastante crecimiento microbiano y un pequeño cambio de color	Se puede observar cambio de coloración, sin embargo no se observa crecimiento microbiano	Ni cambio de coloración ni crecimiento Microbiano, comprueba el efecto antimicrobiano del etanol

Fuente: Elaboración propia

Entre los microorganismos capaces de crecer en el medio agar sangre se tienen: bacterias aerobias estrictas, facultativas, micro aerofilas, anaerobias, Gram positivas, Gram negativas, bacterias de crecimiento rápido o crecimiento lento, así también hongos y levaduras.

El fruto de la papaya es atacado principalmente por : antracnosis (*Colletotrichum* sp.), pudrición (*Phytophthora* sp.), Roya negra de la papaya (*Asperisporium* sp.), manchas cafés (*Corye-sporasp.*)²

Los resultados obtenidos indican que el aceite esencial en el agua floral de la Amamaytola inhibe el crecimiento de las bacterias y hongos causantes del deterioro de la Papaya, una comparación con las propiedades bactericidas de el etanol demuestran esta propiedad antimicrobiana (antifúngica y antibacteriana) del aceite esencial de la Amamaytola y el agua floral como positiva con la diferencia de un cambio de coloración (hemólisis) en el agar que no ocurre en el caso de el etanol. Los detalles de la prueba se explican en el Apéndice D.

²Guía Práctica, Segunda edición, Plagas y Enfermedades del cultivo de la papaya en el Salvador Ing. Olga Estela Sandoval Linares-Laboratorio de Parasitología Vegetal; Ing. Gilmar Mauricio Mejía Calderón-Investigador Programas Frutales y Cacao

4.9 Análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

El análisis de cromatograma (Apendice E) mediante el equipo de CG-MS muestra como resultado principal en la Figura 4.13, el 1H-1,2,3 triazole que es uno de los principios activos de las propiedades medicinales de la Amamaytola para curar problemas respiratorios, debido a que este compuesto presenta actividad principal contra el microorganismo causante de la tuberculo-sis *Mycobacterium tuberculosis*.

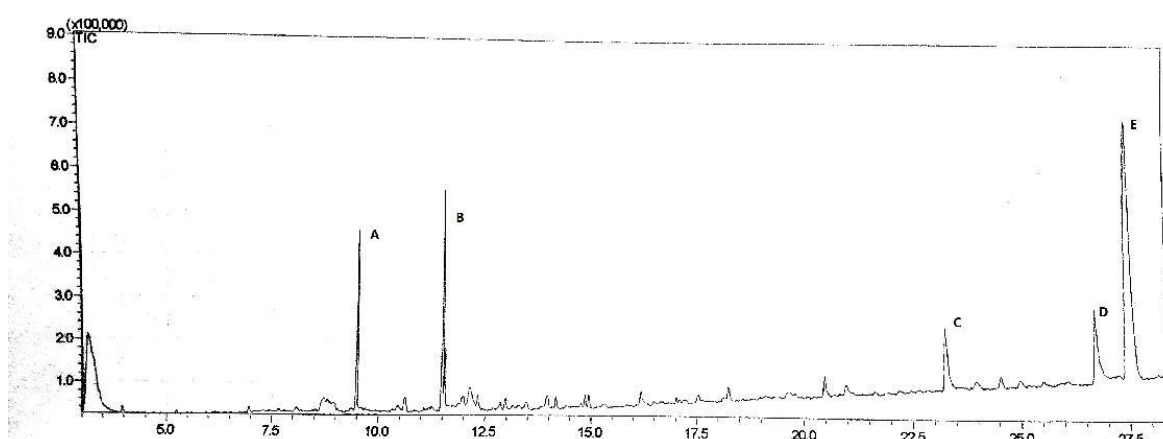


Figure 4.13: Cromatograma obtenido del análisis del aceite esencial de Amamaytola

El pico mas alto observado en el cromatograma es **E** que corresponde al 1H-1,2,3triazol. En el eje X se lee el tiempo que toma el 1H-1,2,3triazol en alcanzar el detector en el extremo de la columna de 50 metros denominado tiempo de retención correspondiente a 27. 5 minutos. En el eje Y se lee la intensidad que es directamente proporcional a la cantidad del componente, donde el pico mas alto corresponde al compuesto 1H-1,2,3triazol concluyendo como el componente en mayor proporción respecto a los demás.

Capítulo 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La investigación realizada en el presente proyecto es la obtención del aceite esencial de la planta nativa Amamaytola vía proceso de extracción por arrastre de vapor de la planta nativa boliviana identificada con el nombre científico *Fabiana Densa* Remy extraída en las estancias de Karkapata y Callanca de Provincia Pacajes del departamento de La Paz, la cual no registra ni estudios ni investigaciones en nuestro país, siendo este trabajo el primero en realizar las primeras investigaciones.

De acuerdo con el resultado taxonómico la Amamaytola pertenece a la familia solanáceas que se caracteriza por contar con muchas especies que contienen diversos tipos de alcaloides, muchas de estas sustancias presentan propiedades farmacéuticas.

La planta nativa Amamaytola se caracterizó, obteniendo como resultados: 40 % de humedad máxima después de la recolección y 9.2882% como valor constante durante el proceso de secado natural a temperatura ambiente, cenizas 3.4254 % en hojas y 1.6072 % en tallos que se encuentran dentro de los parámetros regulares de las plantas y 16.02 % como valor de lípidos que es bastante significativo debido a la resina contenida en la planta.

Se ha realizado el montaje del arreglo experimental en las instalaciones propias de la autora del presente trabajo con un costo aproximado de 14000 Bs. con todas las seguridades pertinentes en las instalaciones eléctricas para la extracción del aceite esencial.

La Figura de 4.5 muestra rendimiento en función del tiempo y en la Figura 4.6 se observa el rendimiento en función del tamaño de la partícula. De las distintas pruebas experimentales el rendimiento varía entre (0.0706-0.1275) % dependiendo de los factores como el tamaño de partícula (11 y 22) mm y el tiempo (60 y 120) minutos. De esta manera, a través del diseño experimental factorial 2^2 se ha determinado el modelo del proceso en función de los factores

tamaño de partícula y tiempo:

$$R = - 0,06595 + 6,80 \times 10^{-3} T_p + 1,899 \times 10^{-3} t - 7.74167 \times 10^{-5} T_p * t$$

La cual indica que la interacción de los factores no es significativa consecuencia de que el coeficiente para la variable interacción es muy pequeña. El análisis de residuos implica que el modelo es significativo, debido que en la Figura 4.8 el supuesto de varianza constante se cumple, los residuos están dispersos alrededor de la banda horizontal. El supuesto de la normalidad en la Figura 4.9 se verifica de tal manera que los puntos no estén dispersos con respecto a la línea colocada visualmente en la figura indicada de los residuos en papel probabilístico normal. Y el supuesto de la independencia se cumple en la Figura 4.10. al no visualizarse ninguna tendencia en los puntos que suban o bajen.

Los resultados de análisis de la actividad antibacteriana señalan que el aceite esencial de la Amamaytola inhibe el crecimiento de los microorganismos que atacan el fruto de la papaya como ser: antracnosis (*Colletotrichum* sp.), pudrición (*Phytophthora* sp.), Roya negra de la papaya (*Asperisporium* sp.), manchas cafés (*Corynespora* sp.) las cuales producen deterioro de la fruta a través de la piel, comparando este resultado de manera similar con el alcohol etílico al 96°G.L. que lógicamente inhibe este crecimiento microbiano sirviendo de verificación de actividad positiva del aceite esencial de la Amamaytola contenido en el agua floral.

Cabe notar que entre los microorganismos capaces de crecer en el medio agar sangre se tienen: bacterias aerobias estrictas, facultativas, micro aerofilas, anaerobias, Gram positivas, Gram negativas, bacterias de crecimiento rápido o crecimiento lento, así también hongos y levaduras.

Finalmente, se ha efectuado el análisis de aceite esencial con un cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas como se muestra en la Figura 4. 13 hallando como posible principio activo al 1H-1,2,3Triazol ($C_2H_3N_3$) compuesto que según la literatura exhibe actividad antimicrobiana contra diferentes tipos de microorganismos pero especialmente contra la *Mycobacteria tuberculosis*. Este resultado acompaña las propiedades curativas para problemas respiratorios que se atribuyen a la planta nativa Amamaytola señaladas por los pobladores de las estancias Karkapata y Callanca de Comunidad Copacati de la Provincia Pacajes del departamento de la Paz.

De esta manera se ha dado un aporte fundamental a la ciencia e industria mediante el estudio y obtención del aceite esencial de la planta nativa Amamaytola en virtud de que no existen estudios previos sobre el o los principios activos de la planta y con los resultados obtenidos se demuestra que es materia prima con excelente perfil para la elaboración de nuevos productos en la industria principalmente farmacéutica y alimenticia.

5.2 Recomendaciones

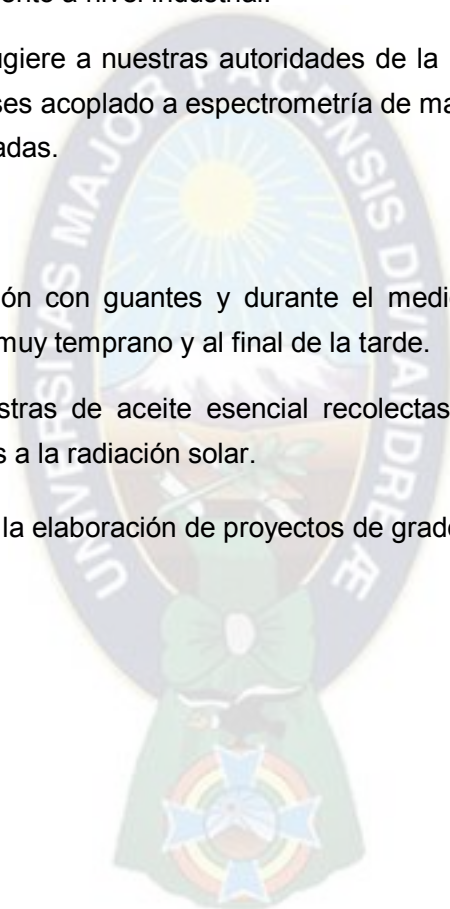
Dentro de este proyecto tan importante para la industria farmacéutica y la ciencia en el área de investigación siempre se desea que haya una mejora continua; por lo tanto se recomienda a los futuros investigadores:

- Optimizar el proceso de extracción con nuevas técnicas para obtener mayor rendimiento.
- Determinar la concentración los principios activos del aceite esencial de Amamaytola para su aprovechamiento a nivel industrial.
- Para el efecto, se sugiere a nuestras autoridades de la carrera adquirir los equipos de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas cg-ms, para desarrollar investigaciones avanzadas.

Acerca del proceso:

- Realizar la recolección con guantes y durante el medio día para evitar el exceso de humedad producida muy temprano y al final de la tarde.
- Sellar bien las muestras de aceite esencial recolectas debido a su volatilidad y no exponer las muestras a la radiación solar.

Finalmente, se sugiere la elaboración de proyectos de grado y tesis con el editor LaTeX en plataforma Linux.



Bibliografía

- [1] K. Husnu Can Baser-Gerhard Buchbauer. The Handbook of ESSENTIAL OILS Science, Technology, and Applications, CRC Press Taylor y Francis Group, New York, 2010.
- [2] Sistema de Bibliotecas Sena, THE INTRODUCCION A LA INDUSTRIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMATICAS, CreativeCommons,
- [3] Pino, ACEITES ESENCIALES Editorial Universitaria, La Habana, 2015
- [4] A.Barbe, ACEITES ESENCIALES Y PERFUMES EDITORIAL PAN AMERICA, , Buenos Aires, 1967.
- [5] Letellier, M., H Budzinski, L. Charrier, S. Capes and A.M. Dorthe, OPTIMIZATION BY FACTORIAL DESIGN OF FOCUSED MICROWAVE - ASSISTED EXTRACTION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS FROM MARINE SEDIMENT , 1999.
- [6] F. Reyes - Jurado, E. Palou y A. Lopez - Malo METODOS DE EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y DETERMINACION DE LOS COMPONENTES QUIMICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES Universidad de las Americas Puebla, Mexico.
- [7] S. Burt ESSENTIAL OILS: THEIR ANTIBACTERIAL PROPERTIES AND POTENTIAL APPLICANTIONS IN FOODS - A REVIEW International Journal of Food Microbiology, 2004
- [8] Sacchetti, G., maietti, S., Muzzolli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. y Bruni, R. COMPARATIVE EVALUATION OF 11 ESSENTIAL OILS OF DIFFERENT ORIGIN AS FUNCTIONAL ANTIOXIDANTS, ANTIRADICALS AND ANTIMICROBIALS IN FOODS, 2005
- [9] Turek, C y Stintzing, F. STABILITY OF ESSENTIAL OILS: A REVIEW IN FOOD. REVIEW ComprehensiveReviews in FoodScience and Food Safety, 2013
- [10] Kalembe, D. y Kunicka, A ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL PROPERTIES OF ESSEN-TIAL OILS. CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY, 2003

- [11] Robert E. Treybal OPERACIONES TRANSFERENCIA DE MASA McGRAW-HILL, Segunda Edición
- [12] J.M. Smith, H. C. Van Ness, M.M. Abbott INTRODUCTION TO CHEMICAL ENGINEERING THERMODYNAMICS McGRAW-HILL, Sixth Edition in SI Units
- [13] CENGEL, Yunus A.; BOLES, Michael A. TERMODINAMICA. 5^oed. Mexico:McGRAW-HILL, 2007. ISBN-13:978-970-10-5611-0
- [14] Gutiérrez Pulido ANALISIS Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS, 2da. Edición
- [15] www.lifeder.com/agar-sangre
- [16] Peter MollerJorgensen; Michael Nee, Stephan Beck, 2015, Catalogo de Plantas vasculares de Bolivia, Missouri Botanical Garden., Herbario Nacional de Bolivia.; Herbario Nacional Forestal Martín Cárdenas;Herbario del Oriente Boliviano y New York Botanical Garden

Apéndices

Apéndice A

Costo de adquisición de equipo de destilación

VIDROLAB
VIDRERÍA DE LABORATORIO REACTIVOS
Y EQUIPAMIENTOS EN GENERAL

DISEÑO, FABRICACIÓN Y REPARACIÓN DE
EQUIPOS EN VIDRIO PARA LABORATORIO
Tel. / Fax Taller de Fab.: 4316426
E mail: vidrolab@hotmail.com

COT N° 001508

Cochabamba 17 de agosto de 2016
Señor: **Alcon**
Presente -

De acuerdo a su solicitud detallamos lo siguiente:

CANTIDAD	DETALLE	PRECIO/U.	TOTAL
1 Equipo	Equipo de destilación por arrastre de vapor de agua. * Balón generador de vapor de 2000 ml con junta esmerilada doble para adición de agua * Balón o Erlenmeyer invertido porta muestra de 1000 ml con dientes para retención de hierbas a extraer. * Cabezal de destilación con juntas * condensador tipo Liebig con juntas * Colector de destilación con llave de teflón y junta esmerilada Toda la vidriería es fabricada en vidrio borosilicato 3.3	3800.-	3800.-
1 Pieza	Manto calefactor cap. 2000 ml marca Fisatom Industria Brasileria Con regulador de temperatura entre 50 y 250 °C	3200.-	3200.-
		Total	7000.- Bs.

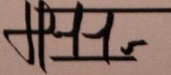
Son : Siete mil ⁰⁰/100 Bolivianos

Tiempo de entrega: 5 días
Forma de pago: Contra entrega

Sin otro particular, me despido de usted con un cordial saludo.

Atta.

José A. Terrazas Vidal
Vidrolab NIT 3616306017



Tienda "VIDROLAB"
Calle Ladislao Cabrera N° F. 455 entre 16 de Julio y Oquendo (Acerá Norte) Tel / Fax 44531154

Figure A.1: Costos del equipo de extracción