

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

*Facultad de Ciencias Forestales*



**Caracterización del aceite esencial de  
"Lanche" (*Myrcianthes rhopaloides*  
(H.B.K) Mc Vaugh) proveniente del  
distrito de Chalaco, provincia de  
Morropón - Piura, obtenido por dos  
métodos de destilación**

*Tesis para optar el Título de*  
**INGENIERO FORESTAL**

**Gabriela Fontenla Razzetto**

Lima – Perú

2006

## RESUMEN

Las hojas de *Myrcianthes rhopaloides* fueron recolectadas en Chalaco – Piura, en los caseríos Río Claro (1800 m.s.n.m.) y Lanche (2300 m.s.n.m) durante dos épocas de colección diferentes: individuos con flores y sin flores. Las hojas fueron reducidas a partículas para favorecer la extracción del aceite esencial por dos métodos de destilación: arrastre por vapor y con agua. Se evaluó la influencia de estas variables en el aceite esencial obtenido. Para ambos métodos, el aceite esencial obtenido presentó las siguientes características organolépticas: color ligeramente amarillo, aspecto líquido oleoso límpido, ligero olor a limón con un toque de hierba luisa, sabor astringente. El aceite esencial obtenido por destilación con agua presentó un rendimiento promedio de 0,63 %, densidad relativa de 0,9 g/cm<sup>3</sup>, 1,48 de índice de refracción y una solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 1,53 mL. El aceite esencial obtenido por destilación por arrastre con vapor tuvo un rendimiento promedio de 0,12 %, densidad relativa de 0,91 g/cm<sup>3</sup>, 1,48 de índice de refracción y una solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 5,8 mL. Por medio de la cromatografía de gases – masa se identificó como componentes principales del aceite esencial obtenido a los 1800 m.s.n.m. a citral y a gamma dodecalactona; a los 2300 m.s.n.m se identificó a citral y beta citronelol. A su vez la concentración de los compuestos varió dependiendo de si el aceite esencial obtenido provenía de material vegetal con o sin flores.

# ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA .....	IV
AGRADECIMIENTOS .....	V
RESUMEN .....	VI
ÍNDICE .....	VII
LISTA DE CUADROS .....	X
LISTA DE FIGURAS .....	XI
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 ACEITES ESENCIALES .....	3
2.1.1 DEFINICIÓN Y GENERALIDADES .....	3
2.1.2 composición química .....	4
2.1.3 clasificación de los aceites esenciales .....	5
2.1.4 DISTRIBUCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE los aceites esenciales .....	7
2.1.5 FUNCIONES BIOLÓGICAS EN LAS PLANTAS .....	8
2.1.6 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	9
2.1.7 USOS Y APLICACIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	10
2.1.8 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES .....	11
2.1.9 CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	16
2.2 CROMATOGRAFÍA .....	19
2.3 ESPECIE ESTUDIADA: <i>MYRCIANTHES RHOPALOIDES</i> (H.B.K.) MC VAUGH .....	20
2.3.1 Taxonomía y descripción botánica .....	20
2.3.2 Distribución y Ecología .....	21
2.3.3 Utilidad de la especie .....	21
2.3.4 Aceite esencial de <i>Myrcianthes</i> sp. ....	22
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1 LUGAR .....	25
3.2 MATERIA PRIMA ESTUDIADA .....	28
3.3 MATERIALES Y EQUIPOS .....	28
3.3.1 Materiales .....	28
3.3.2 Equipos de Laboratorio .....	30
3.4 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	31
3.4.1 Recolección y Acondicionamiento de la materia prima .....	31
3.4.2 Obtención del aceite esencial .....	31
3.4.3 ANÁLISIS EFECTUADOS .....	34
3.4.4 Diseño Experimental .....	34
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>37</b>
4.1 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL .....	37
4.2 RENDIMIENTO .....	37
4.2.1 Análisis de la influencia de la variable Método de destilación en los valores de Rendimiento .....	40
4.2.2 Influencia de la variable Estado vegetativo en los valores de Rendimiento .....	41
4.2.3 Influencia de la variable Altitud en los valores de rendimiento .....	41
4.3 DENSIDAD RELATIVA .....	42
4.3.1 Influencia de la variable Método de destilación en los valores de Densidad Relativa .....	44
4.3.2 Influencia de la variable Estado vegetativo en los valores de densidad relativa .....	45
4.3.3 Influencia de la variable Altitud en los valores de Densidad relativa .....	46
4.4 ÍNDICE DE REFRACCIÓN .....	46

4.4.1	<i>Influencia de la variable Altitud en los valores de Índice de refracción</i> .....	49
4.5	SOLUBILIDAD EN ETANOL DE 70 % DE CONCENTRACIÓN .....	50
4.5.1	<i>Influencia de la variable Método de Destilación en los valores de Solubilidad en etanol de 70 % de concentración</i> .....	52
4.5.2	<i>Influencia de la variable Estado vegetativo en los valores de Solubilidad en etanol de 70 % de concentración</i> .....	52
4.5.3	<i>Influencia de la variable Altitud en los valores de Solubilidad en etanol de 70 % de concentración</i> 53	
4.6	PODER ROTATORIO ESPECÍFICO .....	54
4.7	CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASA (CG-MS).....	54
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>58</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>60</b>
<b>ANEXO 1</b>	.....	<b>67</b>
	CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE EN ESTUDIO .....	67
<b>ANEXO 2</b>	.....	<b>68</b>
	FOTOGRAFÍA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO (MUESTRA CON FLORES) .....	68
<b>ANEXO 3</b>	.....	<b>69</b>
	FOTOGRAFÍAS DE ALGUNOS INDIVIDUOS COLECTADOS .....	69
<b>ANEXO 4</b>	.....	<b>71</b>
	MAPA CON LOS PUNTOS DE COLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL PARA CADA UNO DE LOS CASERÍOS SELECCIONADOS .....	71
<b>ANEXO 5</b>	.....	<b>72</b>
	DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE RENDIMIENTO .....	72
<b>ANEXO 6</b>	.....	<b>73</b>
	DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE DENSIDAD RELATIVA .....	73
<b>ANEXO 7</b>	.....	<b>74</b>
	DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	74
<b>ANEXO 8</b>	.....	<b>75</b>
	DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN ALCOHOL DE 70,2%.....	75
<b>ANEXO 9</b>	.....	<b>76</b>
	INFORMES DE ENSAYO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES-MASA PROPORCIONADOS POR LA SOCIEDAD DE ASESORAMIENTO TÉCNICO .....	76
	INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN EN FLORACION AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1-1800 M.S.N.M (CÓDIGO T4-O-CF) .....	76
	INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1-1800 M.S.N.M (CÓDIGO T8-O-SF) .....	76
	INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN EN FLORACIÓN AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2-2300 M.S.N.M (CÓDIGO T2-L-CF).....	76
	INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2-2300 M.S.N.M (CÓDIGO T6-L-SF).....	76
<b>ANEXO 10</b>	.....	<b>77</b>
	FOTOGRAFÍA DEL EQUIPO EMPLEADO PARA LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE” .....	77
<b>ANEXO 11</b>	.....	<b>78</b>
	NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE DENSIDAD RELATIVA .....	78

<b>ANEXO 12</b> .....	<b>79</b>
NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN .....	79
<b>ANEXO 13</b> .....	<b>80</b>
NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN ETANOL .....	80
<b>ANEXO 14</b> .....	<b>81</b>
NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE ROTACIÓN ÓPTICA.....	81

## Lista de cuadros

	Página
<b>CUADRO 3</b> VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES EMPLEADOS PARA LA PRESENTE INVESTIGACIÓN	15
<b>CUADRO 4</b> RELACIÓN DENSIDAD VS. ÍNDICE DE REFRACCIÓN EN ACEITES ESENCIALES	18
<b>CUADRO 6</b> CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>M. RHOPALOIDES</i>	22
<b>CUADRO 7</b> CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MYRCIANTHES PUNGENS</i> Y <i>MYRCIANTHES CISPLATENSIS</i>	23
<b>CUADRO 9</b> VARIABLES Y NIVELES DE TRABAJO PARA CADA MÉTODO DE DESTILACIÓN EMPLEADO EN EL PRESENTE ESTUDIO	35
<b>CUADRO 10</b> CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DEL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE <b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>CUADRO 11</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS DE RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL DEL PRESENTE ESTUDIO <b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>CUADRO 12</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS DE DENSIDAD RELATIVA DEL ACEITE ESENCIAL DEL PRESENTE ESTUDIO	42
<b>CUADRO 13</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL PRESENTE ESTUDIO	47
<b>CUADRO 14</b> ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS RESULTADOS DE SOLUBILIDAD EN ETANOL DE 70% DEL ACEITE ESENCIAL DEL PRESENTE ESTUDIO	50
<b>CUADRO 15</b> PRINCIPALES COMPUESTOS HALLADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE” OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN EN FLORACIÓN AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1 (1800 M.S.N.M.)	55
<b>CUADRO 16</b> PRINCIPALES COMPUESTOS HALLADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE” OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1 (1800 M.S.N.M.)	55
<b>CUADRO 17</b> PRINCIPALES COMPUESTOS HALLADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE” OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN EN FLORACIÓN AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2 (2300 M.S.N.M.)	55
<b>CUADRO 18</b> PRINCIPALES COMPUESTOS HALLADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE” OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2 (2300 M.S.N.M.)	56

## *Lista de figuras*

	Página
<b>FIGURA 1</b> FORMA QUÍMICA DEL ISOPRENO.....	5
<b>FIGURA 2</b> UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL DISTRITO DE CHALACO .....	26
<b>FIGURA 3</b> MAPA CON UBICACIÓN DE LOS CASERÍOS PERTENECIENTES AL DISTRITO DE CHALACO.....	27
<b>FIGURA 4</b> DIAGRAMA DE FLUJO DE LA OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE”	36
<b>FIGURA 6</b> VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN CON AGUA .....	39
<b>FIGURA 7</b> VARIACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA .....	43
<b>FIGURA 8</b> VARIACIÓN EN LA DENSIDAD RELATIVA DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN CON AGUA .....	44
<b>FIGURA 9</b> VARIACIÓN EN EL ÍNDICE DE REFRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA. ....	48
<b>FIGURA 10</b> VARIACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO POR DESTILACIÓN CON AGUA .....	48
<b>FIGURA 11</b> VARIACIÓN DE LA SOLUBILIDAD AL ALCOHOL DE 70 % (v/v) DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA.....	51
<b>FIGURA 12</b> VARIACIÓN DE LA SOLUBILIDAD AL ALCOHOL DE 70 % (v/v) DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESTILACIÓN CON AGUA.....	51

## ***1. INTRODUCCIÓN***

Desde tiempos remotos, en el campo, la gente emplea los productos provenientes del bosque para suplir sus necesidades de alimento, medicina, materiales para construcción, entre otros. Pero si bien la madera es el producto que comercialmente es considerado el más rentable del bosque, los productos forestales diferentes a la madera son también una fuente importante de ingreso, especialmente para los pobladores locales. Dentro de los productos forestales no maderables con valor comercial se mencionan a los taninos, aceites esenciales, ceras, grasas, fibras, resinas, látex, etc. Es necesario resaltar a los aceites esenciales, los cuales tienen gran importancia al ser insumos de numerosas industrias como la alimentaria, la farmacéutica, la industria de productos de limpieza, en perfumería, etc.; si bien existen algunos aceites esenciales que no pueden ser usados a escala industrial, eso no impide que tengan valor económico y que constituyan una potencial renta para las comunidades rurales.

Con relación a la investigación sobre aceites esenciales, esta es aún insuficiente. Se calcula que existen 17 500 especies de plantas aromáticas; es probable que muchas de las especies forestales existentes en el Perú posean aceites esenciales, pero debido a la falta de investigaciones en la materia, el conocimiento al respecto es muy limitado, lo que no permite poder manejar el recurso mediante un aprovechamiento integral y así mejorar las condiciones de vida de los pobladores que hacen uso del recurso. La falta de estudios ocasiona que el uso sea meramente artesanal.

La creciente demanda mundial por productos que provengan de fuentes naturales se observa en los volúmenes comercializados; en el caso del Perú, los productos forestales no maderables tienen una mayor importancia en el rubro económico; por ejemplo, según datos de Biocomercio, el año 2005 se exportaron 6 771 267 kg de harina de tara, por un valor de US\$ 5 866 878; también se exportaron 1 369 050 kg de goma de tara, por un valor de US\$ 4 833 019. Igualmente, las exportaciones de látex de sangre de grado alcanzaron un valor de US\$ 50 738. En el caso de aceites esenciales, sólo se conoce el caso de aceite de limón, que entre enero y setiembre del 2005, tuvo un valor de exportaciones de alrededor de US\$ 6,4 millones, creciendo 21 % con respecto a similar periodo en 2004. Los principales destinos fueron EEUU, Países Bajos y Reino Unido, concentrando el 43 %, 31 % y 16 %



respectivamente del total de exportaciones. En el caso de las plantas aromáticas, destaca el comercio de especies como la salvia, la muña, la manzanilla, entre otras.

El mercado de aceites esenciales viene creciendo a nivel mundial, destacando el caso particular de los aceites aromáticos para aromaterapia, donde se alcanzan valores mayores a los 50 dólares americanos por kilogramo. Este mercado tiene la ventaja de que permite que nuevos aromas de aceites esenciales accedan a nuevos mercados.

En el Perú, dentro de los recursos forestales con potencial para la producción de aceites esenciales se menciona al eucalipto, algunas especies de Lauráceas y Mirtáceas. Dentro de nuevas especies forestales aromáticas, se ha identificado en la zona boscosa del norte, en la zona en estudio, una especie conocida localmente como “Lanche” (*Myrcianthes rhopaloides*), perteneciente a la familia de las Mirtáceas, la misma que es empleada por los pobladores locales, entre otras cosas, para la preparación de infusiones. Es un árbol nativo de los Andes, bien representado en los bosques de neblina de los departamentos de Cajamarca, Huánuco, Junín, Pasco, Piura y San Martín. Por antecedentes, se ha corroborado que, previo al presente trabajo, no se han realizado estudios previos en Perú sobre el potencial de esta especie con fines de aprovechamiento de sus aceites esenciales. En consecuencia, la caracterización fisicoquímica y la determinación de la composición química, es inexistente. Es por este motivo que la presente investigación tuvo como objetivo contribuir al conocimiento del “Lanche” y de sus posibilidades económicas, las cuales pueden brindar beneficios a la población rural. En el presente estudio se obtuvo el aceite esencial de “Lanche” por dos métodos de destilación; se evaluó el aceite esencial obtenido y se determinó sus propiedades físicas y composición química. De esta manera, se ha contribuido con información a fin de promover el aprovechamiento racional de la especie en la zona estudiada.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ACEITES ESENCIALES

#### 2.1.1 DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

Bruneton (2001), menciona que de acuerdo a lo estipulado en la Farmacopea Francesa de 1965, los aceites esenciales (esencias = aceites volátiles) son definidos como productos de composición generalmente muy compleja, los cuales contienen los principios volátiles que se encuentran en los vegetales. Continúa el autor citando a la norma AFNOR NF T 75-006, de 1998, en la cual se define a los aceites esenciales como “productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal, ya sea por arrastre de vapor o bien por procedimientos mecánicos a partir del epicarpio de los frutos del género *Citrus*, o por destilación en seco”. Sin embargo, el autor menciona que esta definición por procedimiento es restrictiva ya que excluye a los productos que se obtienen por extracción con disolventes así como los que se obtienen por otros procedimientos como el de gas a presión, *enfleurage*, entre otros. Además agrega que los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, son volátiles y raramente coloreados; su densidad es inferior a la del agua, su índice de refracción es elevado y la mayoría desvía la luz polarizada, son liposolubles y solventes en los disolventes orgánicos habituales tales como éter, alcohol, cloroformo, entre otros.

Lock (1994), refiere que los aceites esenciales son los constituyentes odoríferos o esencias de una planta, mientras que Domínguez (1973), los define como mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas.

Según Guenther (1948), los aceites esenciales pueden considerarse como compuestos olorosos presentes en los vegetales, de los que se extraen; suelen ser líquidos e insolubles en agua. Son volátiles en corriente de vapor y se evaporan con velocidades diferentes, a la temperatura ambiental y presión atmosférica ordinaria. Sostiene que de ahí la existencia de términos tales como aceites “volátiles o etéreos”. Por otro lado, Carrizales y Soto (1979), anotan que los aceites esenciales junto con los taninos, resinas, gomas, látex, entre otros, pertenecen al grupo de los llamados extractivos los cuales a pesar de estar presentes en pequeñas cantidades, le

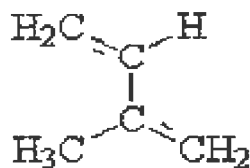
confieren a la madera propiedades especiales que influyen en su comportamiento físico y químico.

### 2.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA

De acuerdo con Domínguez (1973), en un aceite esencial es posible encontrar hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados: alcoholes, aldehídos, cetonas, etc. Dentro de estos, podemos citar como ejemplo: el citral ( $C_{10}H_{16}O$ ) el cual es un importante constituyente de muchos aceites esenciales, especialmente del de limón; el citronelal, que es el componente principal del aceite obtenido de la especie *Eucalyptus citriodora* o como el eudesmol, el cual, según Guenther (1948), es el principal sesquiterpeno encontrado en algunos aceites provenientes del género *Eucalyptus*, y que es empleado como fijador para ciertos perfumes. El mismo autor menciona también que la complejidad de la composición química de los aceites esenciales es debida a la formación de productos ya sea por secreción o excreción en los tantos procesos metabólicos que tienen lugar en las plantas.

Arteaga (1980), menciona que el olor específico de los aceites esenciales es aportado por la presencia de los compuestos oxigenados, dentro de estos es importante mencionar a los aldehídos, ya que a pesar de encontrarse en cantidades muy pequeñas, son los que poseen un olor y aroma característico; Crop & Food Research (2003), agrega que cada uno de los compuestos químicos individuales que pueden ser encontrados en los aceites influyen en la característica del aceite esencial en su conjunto.

Bruneton (2001), aclara que los aceites esenciales son complejas mezclas de constituyentes pertenecientes principalmente a dos grupos: terpenoides y compuestos arénicos derivados del fenilpropano (aunque estos últimos menos frecuentes). Continúa el mismo autor diciendo que los terpenos que se encuentran en los aceites esenciales son aquellos de bajo peso molecular y, por lo tanto, más volátiles, como son los monoterpenos y sesquiterpenos. Al respecto, Valencia (1995), agrega que los monoterpenos son los compuestos cuyo punto de ebullición se encuentra entre los 140° y los 180° C mientras que en los sesquiterpenos se encuentra arriba de los 200° C. Además menciona que los olores y aromas de las plantas se deben a dichos compuestos. Continúa el mismo autor anotando que los terpenos son la unión de dos o más unidades de isopreno, cuya forma saturada es el isopentano.



**Figura 1** Forma química del isopreno

La mayoría de terpenos contienen átomos de carbono en número múltiplo de cinco, lo que da lugar a la siguiente clasificación:

**Cuadro 1** Clasificación de los terpenos

<b>Clasificación</b>	<b>Nº de Carbonos</b>	<b>Ejemplos</b>
Monoterpenos	10 (2 x 5)	Aceites volátiles
Sesquiterpenos	15 (3 x 5)	Aceites volátiles
Diterpenos	20 (4 x 5)	Resinas ácidas, agentes antitumorales
Sesterpenos	25 (5 x 5)	-----
Triterpenos	30 (6 x 5)	Saponinas
Tetrarpenos ó carotenoides	40 (8 x 5)	Pigmentos

*Fuente: Valencia, 1995*

### 2.1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Según Arteaga (1980), los aceites pueden clasificarse:

- a) Por su composición elemental:
- Aceites pobres en oxígeno (ricos en terpenos): como el limón, eucalipto, laurel.
  - Aceites ricos en oxígeno: como el de anís, menta, manzanilla, rosas.
  - Aceites nitrogenados: aceite esencial de berro.
  - Aceites sulfonados: como los del ajo, el de la cebolla.

b) Por su punto de ebullición:

- Fijos: llamados fijadores; tienen un punto de ebullición muy elevado. Como ejemplo tenemos el aceite esencial que se obtiene del clavo de olor.
- Persistentes: Son más volátiles que los anteriores, su acción dura e imprime un carácter especial a los perfumes. Ejemplo: aceite esencial de rosas.
- Fugaces: También llamados volátiles. Su acción dura sólo algunas horas; su peso molecular es relativamente bajo. Ejemplo: mentol, anís.

c) Por su origen:

- Naturales: se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores; debido a su rendimiento bajo son muy costosos.
- Sintéticos: Son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son, la mayoría de las veces, producidos por procesos de síntesis química.
- Artificiales: Se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno ó varios de sus componentes.

Schery (1962), indica que es muy difícil clasificar a los aceites por uso ya que muchos, sino la mayoría, tienen diversos propósitos. Aún así los clasifica en tres categorías:

- Esencias para perfumería: entre los que menciona al aceite esencial de rosas, al aceite de geranio, aceite de patchouli (del cual se dice que es uno de los fijadores más finos para perfumes), entre otros.
- Aceites saborizantes: aceite esencial de canela, de limón, de vainilla, de clavo de olor, etc. Además menciona que si bien muchos de estos aceites son utilizados como líquidos o en solución (como en el caso del aceite de vainilla y el de limón), otros provienen de la misma parte de la planta de la cual el aceite no ha sido extraído.
- Aceites esenciales para medicinas e industria: alcanfor.

## 2.1.4 DISTRIBUCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

### A) DISTRIBUCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LAS FAMILIAS BOTÁNICAS

Según Lawrence citado por Bruneton (2001), existirían 17 500 especies aromáticas, las cuales estarían repartidas en los géneros pertenecientes a las familias Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, entre otras.

El Centro de Comercio Internacional (1986), menciona algunos de los aceites esenciales comercializados mundialmente y la especie de donde proceden:

**Cuadro 2** Listado de aceites esenciales comerciales y sus familias botánicas

<b>Aceite esencial</b>	<b>Nombre de la especie de donde proviene</b>	<b>Familia botánica</b>
Aceite esencial de muña	<i>Minthostachys mollis</i>	LABIATEAE
Aceite esencial de manzanilla	<i>Chamomilla chamomilla</i>	ASTERACEAE
Aceite esencial de limón	<i>Citrus aurantifolia</i>	RUTACEAE
Aceite esencial de jengibre	<i>Zingiber officinale</i>	ZINGIBERACEAE
Aceite esencial de palo santo	<i>Bursera graveolens</i>	BURSERACEAE
Aceite esencial de molle	<i>Schinus molle</i>	ANACARDIACEAE
Aceite esencial de palo rosa	<i>Aniba rosaedora</i>	LAURACEAE
Aceite esencial de eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	MYRTACEAE

Fuente: CCI, 1986.

### B) LOCALIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LAS PLANTAS

Bruneton (2001), anota que los aceites esenciales pueden almacenarse en todos los órganos vegetales -flores, hojas, y siendo menos común en cortezas, leños, raíces, rizomas, frutos y semillas, pero que la composición de los mismos puede variar según donde se encuentre localizado dicho aceite. Esta acumulación se puede dar sobre o en la proximidad de la superficie de la planta: células con aceites esenciales (como en el caso de las Lauráceas y Zingiberáceas), pelos secretores (Lamiáceas), glándulas secretoras (Mirtáceas, Rutáceas) ó canales secretores (Apiáceas, Asteráceas). Respecto a las glándulas secretoras, Domínguez (1973), menciona que éstas se arreglan de tal forma que forman una especie de bolsa donde se acumula el aceite esencial. Por otro lado, Valencia (1995), anota que los aceites volátiles están asociados muchas veces a otras sustancias, como grasas y resinas.

Según Crop & Food Research (2001), las estructuras más estudiadas como fuentes de aceites son:

- Ductos o cavidades: estos son grupos de células justo debajo de la epidermis como en el caso de la piel de los cítricos.
- Glándulas o pelos: originadas en las células epidérmicas, por ejemplo, como las que se encuentran en los cogollos de la lavanda.

De acuerdo con Schery (1962), los aceites son secretados en glándulas especiales (el aceite que se forma comúnmente en las células, forra la glándula o cavidad y pasa por ésta a través de sus paredes celulares), o entre la pared celular y la cutícula de los pelos epidérmicos donde la menor rotura de la cutícula permite la volatilización y saca fuera la fragancia característica de los aceites esenciales. Menciona además que estas glándulas aparecen frecuentemente como puntos translúcidos en hojas o tejidos cuando son vistas a trasluz.

#### 2.1.5 FUNCIONES BIOLÓGICAS EN LAS PLANTAS

Bruneton (2001), afirma que es probable que la función de los terpenoides de los aceites esenciales sea la de cumplir un papel en las interacciones planta-animal tales como: atracción de polinizadores o protección contra los depredadores.

Similar a esta es la opinión de la Crop & Food Research (2001), la cual menciona los efectos aparentemente “útiles” de los aceites esenciales:

- Atracción de polinizadores.
- Reducción de competencia (alelopatía), a través de la inhibición de la germinación y el establecimiento de semillas.
- Protección contra los insectos mediante efectos anestésicos, contra microflora infecciosa por la acción de las propiedades fungicidas y bactericidas y protección contra animales mediante sabores repelentes y/o efectos en el sistema nervioso.

Peralta (1988), anota que así como existen algunos autores que suponen que los aceites pueden regular la transpiración debido a que pueden alterar la conductividad calorífica del agua y la presión osmótica, entre otras funciones, también existen otros que los consideran residuos del metabolismo vegetal. Al respecto, Bell (1980), menciona que por lo menos algunos de los compuestos secundarios de las plantas deben ser de suma importancia ya sea para la realización de las funciones antes mencionadas o para incrementar la habilidad de una especie vegetal de competir con otra en un hábitat determinado.

Asimismo, Guenther (1948), menciona que los aceites actuarían como un mecanismo de regulación hídrica. Agrega también que los aceites podrían tener influencia en la transpiración y en otras importantes funciones de la planta y que esto podría resultar en un retardo en las actividades que realiza la misma, como son el fototropismo y el geotropismo.

#### 2.1.6 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

La Fundación para la Innovación Agraria (2003), anota que existen factores externos e internos que influyen en la calidad del aceite esencial. Entre los factores externos nombra al clima, el suelo, la incidencia de plagas, enfermedades y malezas y las condiciones técnicas de cultivo, cosecha y manejo post-cosecha. Entre los factores internos menciona a las variedades o selecciones dentro de una misma especie, a la etapa de desarrollo de la planta, a la edad de la misma y a la parte vegetal que se utilice.

Guenther (1948), menciona que el grado de madurez de la especie utilizada es uno de los factores más influyentes en la composición del aceite esencial ya que, por ejemplo, los tejidos jóvenes, debido a su intensa síntesis, son los que mejor reflejan los efectos del ambiente. Asimismo agrega que la localización geográfica podría afectar la composición y la cantidad del aceite y que esto se debería a la influencia de factores tales como tipo de suelo, altitud, intensidad de luz solar, precipitación y temperatura. Anota además, que experimentos realizados con plantas bajo sombra y sin sombra indicaron que la luz favorece la formación de aceite.



De la misma manera, Bruneton (2001), enumera otros factores de variabilidad entre los ya mencionados:

- Existencia de quimiotipos o razas químicas.
- Influencia del proceso de obtención.

Schery (1992), agrega que ha sido demostrado que la edad, el crecimiento y las condiciones climáticas afectan la frecuencia de las glándulas y la cantidad de aceite esencial contenido en los tejidos vegetales.

Crop & Food Research (2001), resume los factores que pueden contribuir en las diferencias en el contenido, composición y características del aceite esencial obtenido de plantas de una misma especie:

- Origen geográfico de la planta.
- Factores climáticos: horas de luz solar, fotoperíodo, temperatura.
- Factores edafológicos: estructura del suelo, pH.
- Variaciones diurnas relacionadas a la actividad fotosintética.
- La parte de la planta de la cual se ha obtenido el aceite.
- Estado de madurez de la planta.

#### 2.1.7 USOS Y APLICACIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los usos que presentan los aceites esenciales varían de acuerdo a sus principios activos; Crop & Food Research (2001), señala que los usos finales son determinados por sus propiedades químicas, físicas y sensoriales las cuales difieren mucho de aceite en aceite. Entre esta variedad de uso se incluyen todas las industrias (petrolera, minería, pinturas), alimentos (saborizantes), bebidas, productos farmacéuticos, perfumería y línea de baño, productos de higiene y pesticidas.

Schery (1962), anota que los usos de los aceites esenciales son variados: jabones, desodorantes y preparaciones de baño, además de saborizantes para ciertas comidas y bebidas. También pueden servir como antisépticos y estimulantes, como ingredientes para la elaboración de medicinas, solventes en la industria de pinturas, en insecticidas, como componentes de ceras, pastas, tintas, gomas y similares.

Por su parte, la Fundación para la Innovación Agraria (2003), sostiene que los aceites esenciales requieren de calidad aromática, para ser utilizados en perfumería, calidad de consumo cuando son empleados en productos para la salud y alimentación y calidad, cuando son utilizados con fines industriales. Un uso recientemente difundido es el de tratamientos terapéuticos mediante inhalación, comúnmente conocidos como aromaterapia.

La Encyclopaedia Britannica (2006), agrega que los aceites esenciales son usados comercialmente de tres maneras: como odorizantes, cuando son usados en cosméticos, jabones, detergentes, perfumes y en una serie de productos industriales que van desde comida para animales hasta insecticidas y pinturas; como saborizantes, cuando son empleados en productos comestibles, bebidas gaseosas, carnes, entre muchos otros y cuando son usados “farmacéuticamente” se emplean en pastas dentales y en la elaboración de medicinas.

## 2.1.8 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

### *A) DESTILACIÓN*

Según Arteaga (1980), la destilación es una técnica empleada para separar materiales volátiles de no volátiles. Schery (1962), agrega que el aceite esencial es liberado de las glándulas presentes en los tejidos de las plantas y que esto sucede bajo la influencia del agua hirviendo o del vapor, según sea el caso. Cuando este vapor es condensado y convertido en líquido, el aceite se separa automáticamente, sobre o debajo del agua, dependiendo de su densidad. Continúa el autor diciendo que en la mayoría de las destilaciones, el material vegetal debe ser previamente fragmentado o triturado para asegurar que todos los tejidos glandulares queden expuestos a la acción del agua hirviendo o del vapor.

Cabe agregar que la destilación se basa en la denominada Ley de Dalton o Ley de las presiones parciales, la cual establece que:

*“La presión total ejercida por una mezcla de gases es la suma de las presiones que serían ejercidas por cada una de ellas si estuvieran presentes en forma aislada y ocuparan el volumen total”.*

Esto quiere decir que cuando varios gases o vapores, que no reaccionan entre sí, se mezclan a temperatura constante, cada gas ejerce la misma presión que si estuviera solo y la suma de las presiones parciales de cada uno es igual a la presión total del sistema.

Según Brown & Islip citados por García Naranjo (2002), la destilación se basa en el hecho de que al destilar una mezcla de dos líquidos inmiscibles, su punto de ebullición será la temperatura a la cual la suma de las presiones de vapor es igual a la atmosférica. Esta temperatura será inferior al punto de ebullición del componente más volátil. Si uno de los líquidos es agua y si se trabaja a la presión atmosférica, se podrá separar un componente cuyo punto de ebullición sea mayor a 100°C.

Crop & Food Research (2001), agrega que el estado del material al momento de la destilación (seco/fresco, triturado/intacto, suave/fibroso), puede afectar significativamente el rendimiento, composición y características del aceite.

Por su parte Peralta (1988), menciona que existen varios métodos y que se aplican dependiendo del material vegetal que se emplee (hojas, flores, raíces, etc.). Continúa diciendo que cuando se trata de destilación, especialmente la que trabaja con vapor, se debe tener especial cuidado en distribuir uniformemente el material para así evitar apelmazamientos.

Según Esoteric Oils CC and Salamander Concepts (Pty) Ltd. (2006), la destilación es el método más popular y costo-efectivo empleado hoy en día. Explica que debido a que durante este método se emplea calor, no se puede usar cuando el material vegetal sea sensible o cuando la extracción de los aceites sea muy difícil. Además agrega que se tiene que tener mucho cuidado en el control de la temperatura y en el tiempo de exposición al calor para evitar que los aceites se vean afectados.

Guenther (1948), agrega que el momento de la destilación varía de una especie a otra. Algunas plantas deben ser destiladas tan pronto como sean cortadas, otras después de un oreado y otras tras haber sido secadas y almacenadas por años. Pero aclara que las mayores pérdidas de aceite esencial se dan durante el secado al aire del material vegetal (por el fenómeno de difusión) que durante el almacenamiento del mismo después que éste haya sido secado, pero que esto a su vez depende del método y duración del almacenamiento y de la composición química del aceite. Como regla general, concluye que las flores, hojas y material verde no soportan almacenamientos prolongados, mientras que las semillas y raíces retienen sus aceites volátiles por mucho más tiempo.

#### **a) Destilación con agua**

En este método, el material vegetal se encuentra totalmente sumergido en agua hirviendo. Según Kuma (2000), este método es el más simple y muy usado en países en vías de desarrollo. Señala que cuando el calentamiento se realiza a fuego directo puede causar problemas debido a la falta de control y a la posibilidad de que se queme la materia prima lo que da como resultado aceites de baja calidad. Peralta (1988), agrega que en este método la acción química del agua sobre el material es máxima, lo que ocasiona numerosas hidrólisis y oxidaciones, generando que el rendimiento del aceite esencial disminuya. Al respecto, Esoteric Oils CC and Sallamander Concepts (Pty) Ltd. (2006), anota que este método no es recomendable para aceites esenciales que contienen altas concentraciones de ésteres en su composición, ya que la prolongada exposición al agua caliente empezará a romper los ésteres en sus respectivos alcoholes y ácidos carboxílicos. Además menciona que el agua resultante es comercializada como “agua floral”. Guenther (1948), agrega que este método se emplea cuando el material vegetal necesita estar moviéndose libremente en el agua hirviendo ya que cuando se usa otro método, por ejemplo el que emplea vapor, el material tiende a aglutinarse y a formar grandes aglomerados los cuales impiden la penetración del vapor.

#### **b) Destilación por arrastre con vapor de agua**

Sobre este método, Kuma (2000), dice que la carga del material se sostiene en una malla y luego se agrega agua por debajo del nivel del material vegetal. Agrega que a menudo se usan

varias rejillas para evitar que el material se comprima. El vapor, el cual está siempre saturado, húmedo y nunca sobrecalentado, pasa a través del material liberando así los aceites contenidos en él; el vapor generado pasa luego por un sistema refrigerante o condensador el cual permite que el vapor sea transformado en líquido nuevamente (emulsión) y se reciba en un vaso llamado florentino donde por diferencia de densidades el agua y el aceite esencial se separan. La ventaja de este método radica en que ya que algunos compuestos pueden separarse a una temperatura menor a su punto de ebullición, existe un ahorro considerable de tiempo y energía y además permite destilar compuestos que a mayores temperaturas se descompondrían, afectando así la calidad del aceite.

### **c) Destilación con agua y vapor**

De acuerdo con Bruneton (2001), este método consiste en sumergir el material vegetal en agua luego de lo cual se inyecta vapor el cual es producido por un generador separado. Se aplica en el caso de que los productos a obtenerse sean susceptibles a alteraciones ocasionadas por una ebullición prolongada.

## *B) EXPRESIÓN DEL PERICARPIO*

Según Bruneton (2001), existen variantes de la aplicación de este método pero el principio es el mismo: los pericarpios se escarifican y el contenido de las cavidades secretoras (las cuales se han roto), se recupera, ya sea manual o mecánicamente. Se puede realizar de distintas maneras:

- Rallado de la piel o cáscara.
- Aplastamiento de los frutos enteros entre dos cilindros metálicos.
- Presión directa de los frutos partidos los cuales están privados de su zumo.

## *C) ENFLEURAGE O EXTRACCIÓN CON GRASAS FRÍAS*

Según Bruneton (2001), este método es muy antiguo y consiste en colocar el material vegetal (principalmente flores) sobre unas placas de vidrio las cuales se encuentran recubiertas de una

fina capa de grasa. Este proceso se repite continuamente, reemplazando las flores empleadas por flores frescas. Por su parte Guenther (1948), menciona que este método requiere de mucha experiencia ya que es un proceso muy largo y delicado. Continúa diciendo el autor que este método se restringe a las flores que aún después de colectadas, continúan con sus actividades fisiológicas de producción y emisión de olor.

Un breve resumen con las ventajas y desventajas de los métodos empleados en el presente estudio se observan en el siguiente cuadro tomado de Guenther (1948):

**Cuadro 3** Ventajas y desventajas de los métodos de obtención de aceites esenciales empleados para la presente investigación

<b>Destilación</b>		
	<b>Con agua</b>	<b>Por arrastre con vapor</b>
<b>Equipo de destilación</b>	Simple, económico, transportable, fácil de instalar	Un poco más costoso y complicado que el primer método. En tamaño pequeño es transportable y puede ser instalado en el campo.
<b>Tipo de material vegetal</b>	Ideal para materiales finamente triturados, incluso para flores que tienden a aglomerarse. No recomendable para material que contiene constituyentes saponificables, solubles en agua o de alto punto de ebullición.	Ideal para hojas y hierbas
<b>Triturado</b>	Da mejores resultados cuando el material está finamente triturado	El material vegetal debe ser de tamaño uniforme y no muy triturado.
<b>Hidrólisis</b>	Alta tasa de hidrólisis de ésteres.	Hidrólisis relativamente baja.
<b>Tasa de destilación</b>	Relativamente baja	Bastante buena
<b>Rendimiento de aceite</b>	En la mayoría de los casos relativamente bajo debido a la hidrólisis y porque los constituyentes solubles en agua son retenidos en esta.	Bueno, si no ocurre humedecimiento y apelmazamiento del material vegetal lo que ocasiona que el vapor no lo penetre
<b>Calidad del aceite</b>	Depende de si la operación ha sido llevada a cabo con cuidado.	Normalmente buena

Fuente: Guenther, 1948

### 2.1.9 CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Según Valencia (1995), la caracterización comprende todos aquellos métodos que conllevan a la identificación de un compuesto puro o de tipos de compuestos presentes en una mezcla. Además agrega que cuando se trata de ésta última, se tiene que realizar un análisis cuantitativo de los componentes.

García Naranjo (2002), menciona que los métodos de análisis de aceites esenciales comprenden: examen organoléptico, características de propiedades fisicoquímicas, valoraciones químicas específicas, análisis por cromatografía de gases, entre otros.

Examen organoléptico: Se observa el color, claridad, viscosidad, presencia de sedimentos, ceras separadas y agua. Asimismo, el olor y el sabor.

Propiedades fisicoquímicas: Densidad, densidad relativa, índice de refracción, solubilidad en etanol de determinada concentración, rotación óptica.

#### *A) DENSIDAD*

La Norma Técnica Peruana 319.081 (1974), define a la densidad como la relación entre la masa de un volumen dado de un aceite esencial y su volumen, determinados a 20°C y a la densidad relativa como la relación entre la densidad del aceite a 20°C y la densidad del agua destilada a la misma temperatura.

De acuerdo con Guenther (1948), la gravedad específica sería un indicador importante de la calidad y pureza del aceite esencial; fluctúa entre 0,696 y 1,188 a 15°C. Quinde citado por Pezo (2003), agrega que aceites con valores inferiores que el agua generalmente son ricos en hidrocarburos, alcoholes, aldehídos o cetonas (como por ejemplo aceites de limón, eucalipto, geranio, etc). Aceites con peso específico próximo a 1 o superior a 1 contienen generalmente fenol o derivados fenólicos y/o éteres (por ejemplo el aceite de anís).

### *B) PODER ROTATORIO ESPECÍFICO Y DESVIACIÓN POLARIMÉTRICA*

Según la Norma Técnica Peruana N° 319.076:1974, la determinación de la desviación polarimétrica se efectúa generalmente sobre el aceite esencial al natural y la determinación del poder rotatorio específico, sobre el aceite esencial diluido en un solvente.

El principio del método se basa en la medida de la rotación del plano de polarización de la luz, a una longitud de onda definida, al atravesar un espesor determinado de aceite esencial. La longitud de onda es generalmente aquella correspondiente a la línea D del sodio.

Guenther (1948), menciona que la mayoría de los aceites esenciales al ser sometidos a una luz polarizada poseen la propiedad de rotar el plano de polarización a la derecha (dextrógiro) o a la izquierda (levógiro). Además agrega que el grado de rotación así como su dirección son importantes como criterio de pureza. Es importante tener en cuenta que Martínez citado por Chacón (2003), dice que las esencias pobres en oxígeno son más activas a la luz polarizada.

### *C) ÍNDICE DE REFRACCIÓN*

Según el Codex Alimentarius (2005), el índice de refracción de una sustancia es la relación que hay entre la velocidad de un rayo de luz en el aire y la velocidad de un rayo de luz en el material a evaluar bajo las mismas condiciones. Es igual a la relación del seno del ángulo de incidencia hecho por un rayo de luz en el aire y el seno del ángulo de refracción hecho por el rayo en el material que está siendo evaluado. La determinación del ángulo de refracción debe hacerse a la temperatura especificada según norma o a 25°C si la temperatura no ha sido especificada. Esta constante física es utilizada con fines de identificación de, y detección de impurezas en, aceites volátiles y otras sustancias líquidas.

El índice de refracción oscila generalmente entre 1,43 y 1,62 a temperaturas alrededor de 20°C siendo además este un parámetro que permite revelar la presencia de sustancias extrañas.

A continuación, en el cuadro N° 4, se presenta un cuadro elaborado en base a información proporcionada por Domínguez (1973):



**Cuadro 4** Relación Densidad vs. Índice de refracción en Aceites Esenciales

<b>Relación Densidad vs. Índice de refracción</b>		<b>Posibles componentes presentes</b>
<b>Densidad (g/mL)</b>	<b>Índice .de refracción</b>	
Menor a 0,9	Menor a 1,47	Alto porcentaje de hidrocarburos terpénicos o compuestos alifáticos
Mayor a 0,9	Menor a 1,47	Compuestos oxigenados alifáticos
Menor a 0,9	Mayor a 1,47	Hidrocarburos aromáticos
Mayor a 0,9	Mayor a 1,47	Compuestos oxigenados aromáticos o alicíclicos

*Fuente: Domínguez, 1973*

#### *D) SOLUBILIDAD EN ETANOL*

En la Norma Técnica 319.084 se establece el método de determinación de la solubilidad de aceites esenciales en diluciones de etanol. El principio del método consiste en que, a una temperatura de 20°C se adiciona progresivamente al aceite esencial, una solución acuosa de etanol de concentración adecuada y conocida y se observa el grado de solubilidad. Según Arteaga (1980), la solubilidad de un aceite esencial en etanol indica la presencia de compuestos oxigenados hidrofílicos. Además indica la aptitud del aceite esencial para ser usado en la industria de perfumería.

En el cuadro N° 5, se presentan resultados de características físico-químicas y rendimientos obtenidos de la evaluación de dos tipos de aceites esenciales, de dos especies de eucalipto.

**Cuadro 5** Caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales de *E.globulus* y *E.citriodora* (MYRTACEAE)

<b>Características físicas</b>	<b>Aceite de Eucalyptus globulus</b>	<b>Aceite de Eucalyptus citriodora</b>
Rendimiento (hojas y ramitas terminales)	0,75 a 1,25%	0,5 a 0,75%
Gravedad específica a 15°C	0,91 a 0,93 g/cm <sup>3</sup>	0,87 a 0,88 g/cm <sup>3</sup>
Rotación óptica	+0°18' a +15°	-2°48' a +2°48'
Índice de refracción a 20°C	1,46 a 1,47	1,45 a 1,46
Solubilidad en etanol de 70%	Soluble en 1,5 a 3 vol	Soluble en 1,3 a 1,7 vol
Principal componente identificado (Porcentaje)	Cineol (70 a 75%)	Citronelal (65 a 80%)

*Fuente: Guenther, 1948*

## 2.2 CROMATOGRAFÍA

De acuerdo con Carrizales y Soto (1979), la cromatografía es una técnica que analiza con rapidez y precisión mezclas de sustancias volátiles. El método se basa en la partición de los componentes en una fase móvil (el gas) y la fase estacionaria. La fase móvil al atravesar la fase estacionaria, separa la muestra en sus componentes de acuerdo a las diferencias de solubilidad y volatilidad de los mismos, así cada componente sale por separado y a un tiempo característico que está en función de los parámetros de trabajo, este tiempo es de un valor útil en la identificación. Finalmente cada componente pasa al detector donde se convierte en una señal eléctrica proporcional a la cantidad de muestra que sale, la cual se registra con un graficador dando como resultado una gráfica llamada cromatograma. Continúan los autores diciendo que una posibilidad del cromatógrafo de gases es la de primero separar los componentes y luego someterlos a análisis espectral mediante la conexión al espectrómetro de masas formando así un sistema CG-EM (GC-MS, por sus siglas en inglés) el cual se ha convertido en una de las más importantes técnicas del análisis fitoquímico. Una gran desventaja de estos análisis es su alto costo.

## 2.3 ESPECIE ESTUDIADA: *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaugh

### 2.3.1 TAXONOMÍA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

#### A) CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino : Plantae

Phyllum : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Orden : Myrtales

Familia : Myrtaceae

#### B) SINÓNIMOS

- *Eugenia porphyroclada* O. Berg
- *Eugenia rhopaloides* (Kunth) DC.
- *Myrthus rhopaloides* Kunth

#### C) NOMBRES COMUNES

*Myrcianthes rhopaloides* es conocido localmente como “Lanche”.

#### D) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Según Mc Vaugh (1958), los individuos pertenecientes a esta especie son árboles pequeños y compactos, de aproximadamente 10 metros de alto. Las hojas son completamente glabras de forma variable, incluso en la misma planta, elípticas a obovadas ú ovadas, a veces más anchas

que largas. La superficie superior es lisa y marcadamente lustrosa, la superficie interna es mate, con pocas glándulas al menos cuando las hojas son jóvenes. La inflorescencia está básicamente formada de dicasios con la flor central sécil, flores 1–7; Flores con 4–5 lóbulos del cáliz libres, imbricados en el botón, persistentes en el fruto; hipanto no prolongado sobre el ovario; pétalos en igual número que lóbulos del cáliz, conspicuos, blancos, imbricados y con pintas rosadas en el botón; ovario bilocular, óvulos en placenta central. Baya generalmente con una semilla madura.

### 2.3.2 DISTRIBUCIÓN Y ECOLOGÍA

Ulloa y Møller (2005), anotan que el género *Myrcianthes* consta de 40 especies distribuidas en América desde Florida hasta el Uruguay y norte de Argentina, siendo mejor representado en los Andes. Brako y Zarucchi (1993), agregan que de las 40 especies de *Myrcianthes* distribuidas en América, por lo menos 20 se encuentran en Perú.

Según Missouri Botanical Garden (2005), es un árbol nativo de los Andes presente en los bosques de neblina, en zonas alteradas entre los 2000 y los 3000 m.s.n.m. En el Perú ha sido reportado para los departamentos de Cajamarca, Huánuco, Junín, Pasco, Piura y San Martín.

Según el Centro de Investigación en Geografía Aplicada (CIGA, 1991), se le encuentra en estado silvestre, entre los 1200 y los 2500 m.s.n.m., donde la vegetación es siempre verde, donde existe disponibilidad de agua por la presencia de quebradas y pequeños puquios y la gradiente de las vertientes es más suave. Sánchez citado por Rodríguez (2006), menciona que se puede encontrar a la especie entre los 2000 y 3000 m.s.n.m., en laderas bajas y pies de laderas, en suelos pesados, con drenaje lento y no anegados.

### 2.3.3 UTILIDAD DE LA ESPECIE

Según Kahatt (2006), la especie es multipropósito ya que la población aledaña a la zona de estudio la emplea para diversos fines: alimentarios (los frutos son apreciados por los pobladores), de construcción y utilitario (la madera es empleada para construcción de casas y también para la elaboración de cucharas; también se usa para leña) y con fines medicinales (las

hojas se utilizan para preparar infusiones que alivian el dolor de estómago, el dolor de garganta y para el resfrío).

#### 2.3.4 ACEITE ESENCIAL DE *Myrcianthes* sp.

Según un estudio realizado en la provincia de Loja (Ecuador) por Malagón *et. al* (2003), el aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides*, luego de una hidrodestilación (o destilación con agua) durante dos horas, empleando material fresco, mostró las siguientes características:

**Cuadro 6** Características del aceite esencial de *M.rhopaloides*

<b>Rendimiento (% v/v)</b>	<b>Densidad ( g/mL)</b>	<b>Índice de refracción</b>	<b>Rotación óptica</b>
0,32	0,883	1,482	3,48°

Fuente: Malagón *et. al* (2003)

En cuanto a su composición química, los autores determinaron que fueron los monoterpenos oxigenados los que se encontraban en mayor proporción (70%), entre éstos: geranial (34%) y neral (25%) seguidos de  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno en proporciones de 7 % y 9 % respectivamente. Los autores hicieron mención a la diferencia en la composición química del aceite esencial de la especie *Myrcianthes rhopaloides* con el de otras especies del mismo género, para los cuales investigaciones previas reportan entre sus componentes más comunes y predominantes: limoneno, 1,8- cineol y  $\alpha$ -pineno.

Por otro lado, Avanza *et. al* (2006), en un estudio llevado a cabo en la provincia de Corrientes (Argentina), reportan resultados para dos especies pertenecientes al género *Myrcianthes* (*Myrcianthes pungens* y *Myrcianthes cisplatensis*), las cuales fueron colectadas en épocas y localidades geográficas diferentes. Los resultados del estudio son presentados en el Cuadro 7.

**Cuadro 7** Caracterización del aceite esencial de *Myrcianthes pungens* y *Myrcianthes cisplatensis*

<b>Características</b>	<b><i>M. pungens</i></b>		<b><i>M. cisplatensis</i></b>
	<b>Localidad I</b>	<b>Localidad II</b>	<b>Localidad III</b>
Rendimiento % (peso/peso)	0,021	0,06	0,378
Densidad ( g/mL)	0,93		0,9218
Rotación óptica	13,92		15,70
Índ.refracción	1,4940		1,4918

Fuente: Avanza et al., 2006

Durante el mencionado estudio se realizó, además, una cromatografía de gases-masa para determinar los compuestos presentes en los aceites esenciales obtenidos. Los resultados arrojaron que 1,8-cineol, limoneno,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -felandreno fueron los constituyentes principales en sendas especies. Asimismo, los autores agregan que estos compuestos ya han sido citados anteriormente como presentes en los aceites esenciales de *Myrcianthes* sp. Incluso mencionan que la presencia de dichos compuestos justificaría las distintas propiedades medicinales (estimulantes, diuréticas y sudoríficas) atribuidas a las especies *M. pungens* y *M. cisplatensis*.

De la misma manera, Arze et al. (2005), en un estudio realizado en Cochabamba (Bolivia) con las especies *Myrcianthes osteomeloides* y *M. pseudomato* reportan un rendimiento de 0,6 % y 0,1 %, respectivamente. Mencionan que los componentes hallados en mayor porcentaje fueron 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -terpineol. Además de estos compuestos, también se halló  $\beta$ -pineno y limomeno (*M.osteomeloides*) y linalol, limoneno,  $\gamma$ -terpineno y  $p$ -cymeno (*M.pseudomato*).

Continúan Arze et al. (2005), citando a varios autores los cuales reportan la presencia de diferentes compuestos identificados en tres especies del género *Myrcianthes*: Tucker et al. son citados, los cuales mencionan que en *Myrcianthes fragrans* (reportada para Cuba y Jamaica) se identificó la presencia de  $\alpha$ -pineno, limoneno, 1,8-cineol y  $\alpha$ -terpineol. Carmen et. al también son citados, quienes reportan la presencia de  $\alpha$ -pineno, limoneno, 1,8-cineol, cedrol, eugenol y

cresol para la especie *Myrcianthes callicoma*. Continúan Arze *et.al* (2005) citando a Tucker *et al.* quienes identifican la presencia de limoneno, carvona y  $\alpha$ -pineno para *Myrcianthes coquimbensis*.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LUGAR**

La colección de la materia prima se realizó en el distrito de Chalaco, provincia de Morropón en el departamento de Piura, el cual se encuentra ubicado en las coordenadas 5° 02' 15" Latitud Sur y 79° 47' 39" Longitud Oeste y posee una extensión de 151.96 km<sup>2</sup>. Este distrito abarca 47 caseríos distribuidos en cinco microcuencas: Los Potros, Cerro Negro, Mijal, Nogal y Ñoma. Los caseríos seleccionados para el presente estudio fueron: caserío Orcones (también conocido como Río Claro) y el caserío Lanche, con una extensión de 141,88 y 514,83 hectáreas, respectivamente y localizados en la microcuenca Cerro Negro. El distrito de Chalaco se encuentra clasificado según el Mapa de Zonas de Vida de Holdridge en cinco zonas de vida: bosque seco-Premontano Tropical (bs-PT), bosque seco-Montano Bajo Tropical (bs-MBT), bosque húmedo-Montano Bajo Tropical (bh-MBT), bosque húmedo-Montano Tropical (bh-MT) y bosque muy húmedo-Montano Tropical (bmh-MT).

El clima es húmedo, con presencia de neblinas durante todo el año, principalmente en la estación lluviosa. Según registros de la estación meteorológica Chalaco a 2276 m.s.n.m., la temperatura media máxima para el 2003 fue de 20°C y la mínima de 12°C. Durante el mes de Julio hay presencia de heladas, las cuales afectan la vegetación y los cultivos en forma significativa. La precipitación media es de 891.3 mm, siendo la máxima de 1908.2 mm y la mínima de 129.01 mm. En la Figura 2 se puede apreciar un mapa con la ubicación geográfica del distrito de Chalaco y en la Figura 3 un mapa con los caseríos pertenecientes al mencionado distrito.

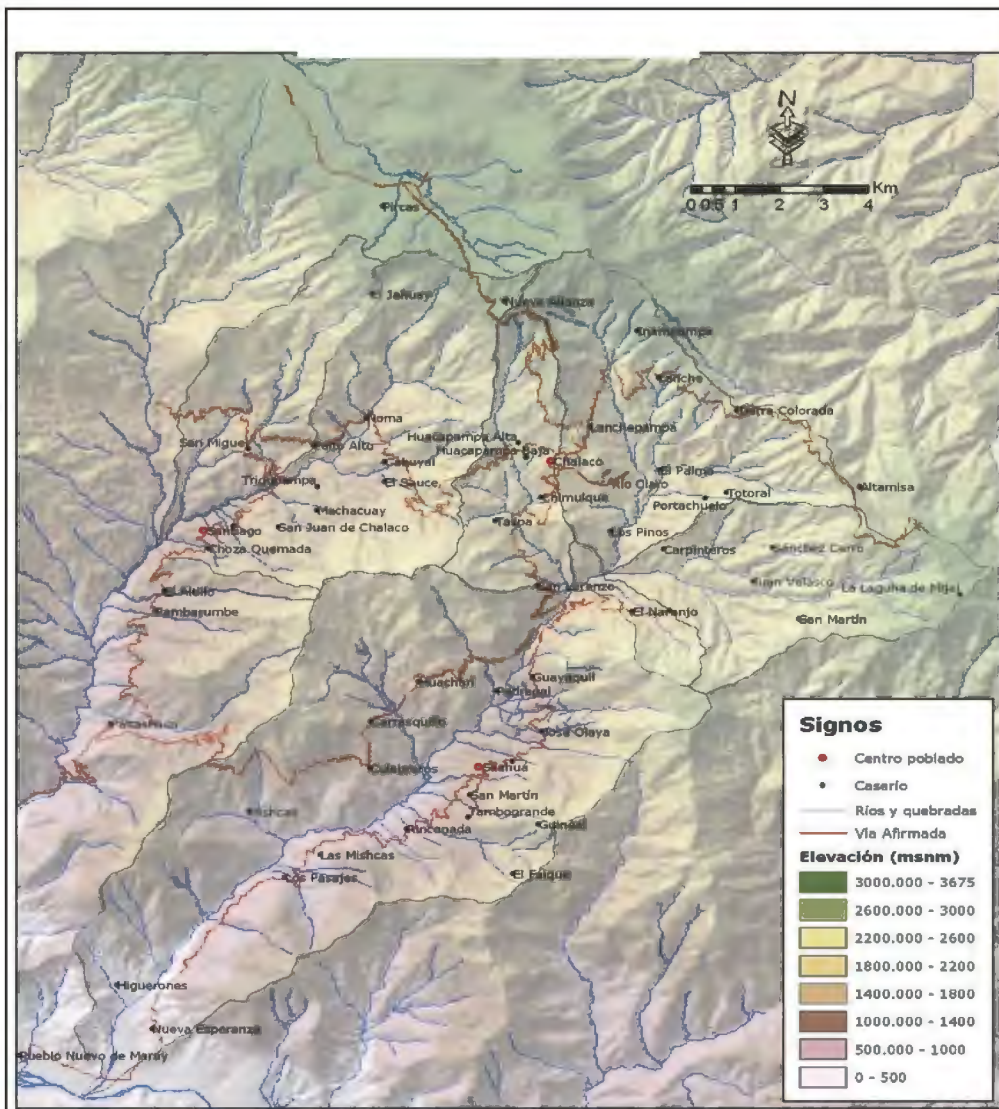
La fase experimental se desarrolló en el laboratorio del Área de Transformación Química de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) así como también en el Laboratorio de Química de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI). El ensayo de cromatografía se realizó en el laboratorio de la Sociedad de Asesoramiento Técnico (SAT), Lima.





*Fuente: Unidad de SIG de la Universidad de Piura (UDEP)*

**Figura 2** Ubicación geográfica del distrito de Chalaco



Fuente: Unidad de SIG de la Universidad de Piura (UDEP)

Figura 3 Mapa con ubicación de los caseríos pertenecientes al distrito de Chalaco

### 3.2 MATERIA PRIMA ESTUDIADA

Para fines de la investigación se colectó un total de 36 kg de material vegetal (peso húmedo). Se seleccionaron e ingresaron especímenes para identificación en el Herbario Forestal (MOL) de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina, los cuales fueron identificados de la siguiente manera:

Nombre científico: *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaugh

Nombre común: “Lanche”

Familia: Myrtaceae

En el Anexo 1 se puede observar la Constancia de Identificación expedida por el Director del mencionado Herbario y en los Anexos 2 y 3 se pueden apreciar fotografías de la especie en estudio.

### 3.3 MATERIALES Y EQUIPOS

#### 3.3.1 MATERIALES

- Materia prima.-
  - Hojas de “Lanche” (*Myrcianthes rhopaloides*)
- Materiales para la colecta.-
  - Prensas botánicas
  - Tijeras de podar
  - Costalillos de tocuyo
  - Balanza romana
  - GPS
  - Libreta de campo

- Lápiz
- Plumón negro
- Hilo y aguja
  
- Reactivos químicos.-
  - Agua destilada
  - Alcohol etílico al 70 % (v/v)
  - Alcohol etílico absoluto anhidro al 99,9 % (v/v)
  
- Materiales de vidrio.-
  - Pera de decantación
  - Crisoles
  - Desecador
  - Picnómetro de 1 mL
  - Termómetro
  - Buretas graduadas
  - Tubos de ensayo
  - Frascos y varillas de vidrio
  - Pipeta graduada
  
- Otros materiales
  - Bolsas de plástico
  - Baldes de plástico
  - Jeringas
  - Algodón

- Pinzas
- Paños de papel
- Soportes universales
- Mangueras
- Cajas de cartón
- Sellador de bolsas
- Etiquetas

### 3.3.2 EQUIPOS DE LABORATORIO

- Equipo de destilación por arrastre de vapor con capacidad de 10 kg.
- Equipo de destilación con agua, con capacidad de 100 L.
- Condensador o refrigerante
- Balanza analítica marca OHAUS; modelo AP105, capacidad máxima 200g; sensibilidad 0,0001 g.
- Balanza analítica Denver Instrument con sensibilidad de 0,1 mg.
- Balanza marca Sauter; modelo Toppan, capacidad máxima 1000g; sensibilidad 0,1g.
- Estufa eléctrica de calentamiento marca Heraeus; temperatura regulable de 0° a 300°C.
- Trituradores marca Oster.
- Refractómetro marca ATAGO Código N-2E, Cat. No. 2161, Rango de 0-20%
- Polarímetro marca A. Krüss Optronic
- Cromatógrafo de gases (GC) marca Perkin Elmer Clarus 500 acoplado a un espectrómetro de masas (MS) marca Clarus 500, gas carrier Helio, columna Elite 5MS 30 x 0,25 x 0,25, 5% fenil, 95% dimetil, polisiloxano.
- Computadora Pentium IV

### **3.4 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

#### **3.4.1 RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA**

La materia prima fue colectada en dos caseríos: Orcones (1800 m.s.n.m) y Lanche (2300 m.s.n.m.), de ahora en adelante “Lugar de colección 1” y “Lugar de colección 2”, respectivamente. Ambos caseríos se encuentran situados en el distrito de Chalaco, provincia de Morropón – Piura. En dichos lugares se eligieron individuos al azar y representativos de la especie. En el Anexo 4 se puede apreciar un mapa con los puntos de colección de material vegetal para cada uno de los caseríos seleccionados.

La materia prima fue colectada en dos épocas diferentes: Junio del 2005, mes durante el cual los individuos carecían de flores y Octubre del mismo año, en el que los individuos sí se encontraban en floración.

Las hojas fueron oreadas bajo techo para evitar que estuvieran expuestas a los rayos solares en forma directa. Esto se realizó durante todo el tiempo que duró la colecta que fue de aproximadamente 5 días para cada época. Pasado ese tiempo, el material fue debidamente embalado, codificado y enviado al Área de Transformación Química de la Facultad de Ciencias Forestales de la UNALM para su preparación.

Una vez en el laboratorio, la materia prima fue extendida sobre mesas en un área ventilada, esto con la finalidad de obtener un contenido de humedad uniforme en todas las hojas. Posteriormente, se retiró las hojas de las ramas para facilitar el manipuleo así como para su reducción a partículas antes de su ingreso al equipo de destilación.

Se tomó una muestra de las hojas, por duplicado, para la determinación del contenido de humedad según la Norma Técnica Peruana 251.010.

#### **3.4.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL**

Los métodos utilizados para la obtención del aceite esencial de “Lanche” fueron el método de destilación con agua y el método por arrastre con vapor de agua. Las condiciones generales de

trabajo para ambos métodos de muestran en el Cuadro 8 y una fotografía del equipo empleado puede observarse en el Anexo 10.

**Cuadro 8** Condiciones de trabajo para la destilación con agua y para la destilación por arrastre con vapor

<b>Presión atmosférica</b>	756 mm Hg
<b>Altitud</b>	238 m.s.n.m
<b>Temperatura media</b>	22° C
<b>Tiempo de destilación</b>	90 minutos

*Fuente: García Naranjo, 2002*

Los procedimientos de destilación fueron los siguientes:

*A) DESTILACIÓN CON AGUA*

- Se pesaron 500 gramos de muestra, la cual fue triturada para aumentar la superficie de contacto y de esta manera favorecer la salida del aceite.
- El material se colocó en la cesta perforada la cual fue introducida en el equipo de destilación., seguidamente se agregó agua hasta que las hojas estuvieran totalmente sumergidas.
- El equipo de destilación fue cerrado herméticamente y la manguera que conduciría el vapor de agua y el aceite fue conectada al refrigerante.
- La manguera que conduciría el agua por el refrigerante fue conectada y se hizo circular el agua.
- Se colocó la pera de decantación en la salida del refrigerante para recibir el destilado.
- Se conectó el equipo de destilación a una fuente de electricidad durante el tiempo programado (90 minutos).

- Una vez concluido el tiempo, se desconectó el equipo de destilación.
- Finalmente, la pera de decantación fue retirada y se la dejó reposar hasta el día siguiente.

#### *B) DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA*

- Se pesaron 500 gramos de muestra, la cual fue triturada para aumentar la superficie de contacto y de esta manera favorecer la salida del aceite.
- El material se colocó en la cesta perforada la cual fue introducida en el equipo de destilación., seguidamente se agregó agua pero sólo hasta un nivel en que no tuviera contacto con las hojas (aproximadamente 10 cm por debajo de la parte inferior de la cesta).
- El equipo de destilación fue cerrado herméticamente y la manguera que conduciría el vapor de agua y el aceite fue conectada al refrigerante.
- La manguera que conduciría el agua por el refrigerante fue conectada y se hizo circular el agua.
- Se colocó la pera de decantación en la salida del refrigerante para recibir el destilado.
- Se conectó el equipo de destilación a una fuente de electricidad durante el tiempo programado (90 minutos).
- Una vez concluido el tiempo, se desconectó el equipo de destilación.
- Finalmente, la pera de decantación fue retirada y se la dejó reposar hasta el día siguiente.

El aceite esencial obtenido de cada una de las destilaciones fue guardado en frascos de vidrio color transparente los cuales fueron debidamente etiquetados. En la etiqueta se colocó un código correspondiente al ensayo realizado. Dichos frascos fueron almacenados en oscuridad a una temperatura de 9°C.



### 3.4.3 ANÁLISIS EFECTUADOS

#### A) RENDIMIENTO

Para la determinación del rendimiento se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso del aceite esencial (g)}}{\text{Peso seco de la muestra (g)}} * 100$$

#### B) DENSIDAD RELATIVA

Según la Norma Técnica Peruana NTP 319.075: 1974 (Anexo 11).

#### C) ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Según la Norma Técnica Peruana NTP 319.084: 1984 (Anexo 12).

#### D) SOLUBILIDAD EN ETANOL DE 70,2%

Según Norma Técnica Peruana NTP 319.081: 1974 (Anexo 13).

#### E) PODER ROTATORIO ESPECÍFICO

Según Norma Técnica Peruana NTP 319.076: 1974. (Anexo 14).

### 3.4.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Cada método de destilación se trabajó sobre la base de dos variables – *Estado vegetativo* y *Lugar de colección (Altitud)* – cada una con sus respectivos niveles (dos niveles por variable), como se aprecia en el Cuadro 9.

**Cuadro 9** Variables y niveles de trabajo para cada método de destilación empleado en el presente estudio

<i>Tipo de destilación</i>	<i>Estado vegetativo de la muestra</i>	<i>Lugar de colección<sup>1</sup></i>
Arrastre con vapor	Sin flores	Lugar de colección 1
	Sin flores	Lugar de colección 2
	Con flores	Lugar de colección 1
	Con flores	Lugar de colección 2
Con agua	Sin flores	Lugar de colección 1
	Sin flores	Lugar de colección 2
	Con flores	Lugar de colección 1
	Con flores	Lugar de colección 2

El diseño estadístico empleado fue un diseño de bloques completamente al azar en arreglo 2<sup>2</sup> por ser el más apropiado para este tipo de ensayos. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software estadístico S.A.S (Statistical Analysis System) versión 8. Con el análisis de varianza (ANVA) se verificó si hubo alguna diferencia estadística entre los tratamientos. En los casos en que se encontró diferencias significativas se realizó la prueba de significación de Duncan. El nivel de confianza que se utilizó para todos los ensayos fue de 95% ( $\alpha = 0.05$ ).

La secuencia metodológica de la obtención y caracterización del aceite esencial de “Lanche” se observa en la Figura 4.

<sup>1</sup> Lugar de colección 1: 1800 m.s.n.m; Lugar de colección 2: 2300 m.s.n.m

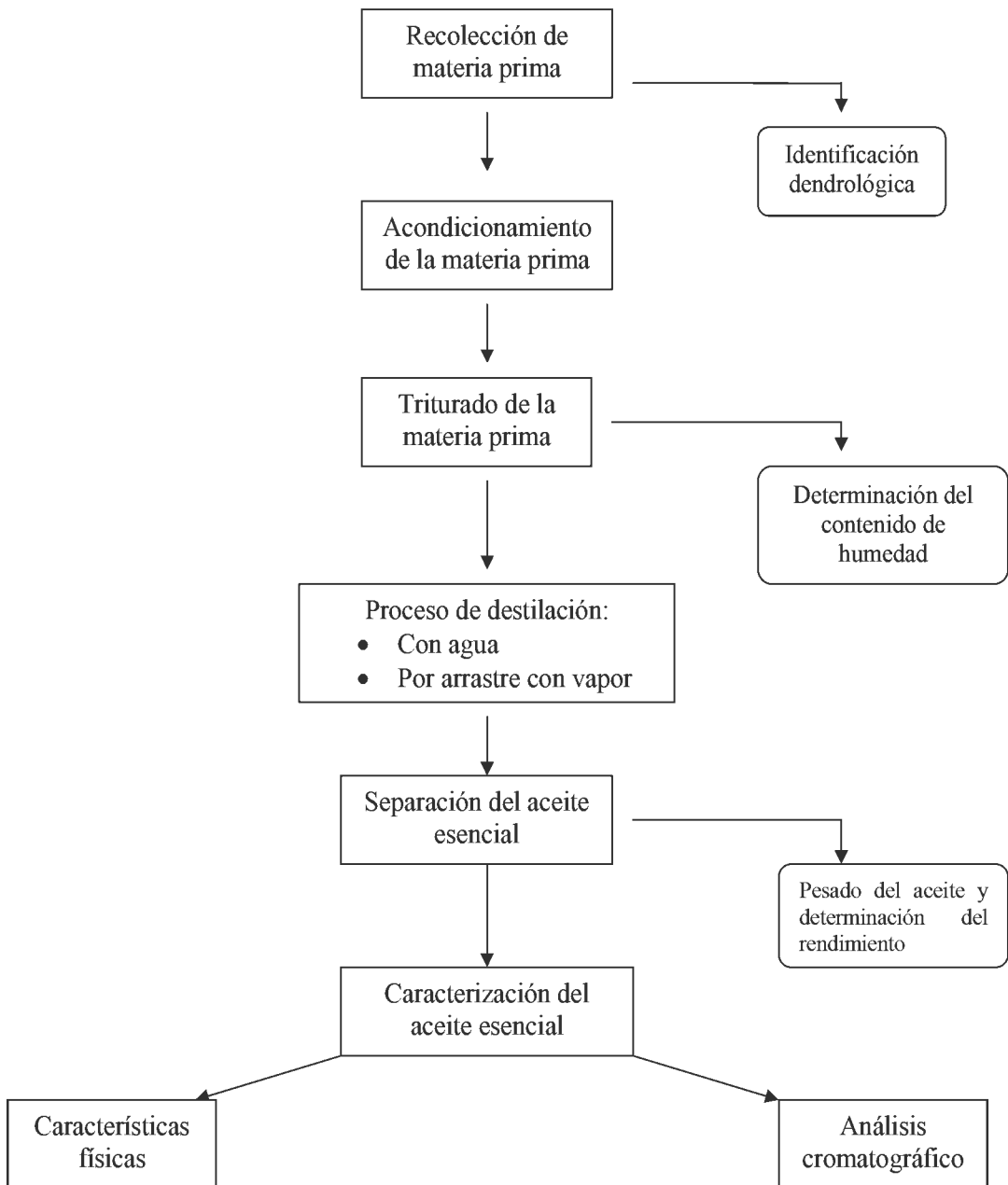


Figura 4 Diagrama de flujo de la obtención y caracterización del aceite esencial de “Lanche”

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL

El aceite esencial de “Lanche” obtenido por los métodos de destilación con agua y por arrastre con vapor, presentó las siguientes características sensoriales, las cuales se aprecian en el Cuadro 10.

**Cuadro 10** Caracterización sensorial del aceite esencial de “Lanche”

<b>Método</b>	<b>Característica sensorial</b>	<b>Aceite esencial de Lanche</b>
Destilación con agua	Color	Ligeramente amarillo
	Aspecto	Oleoso límpido
	Olor	Ligeramente a limón con un toque a hierba luisa
	Sabor	Astringente
Destilación por arrastre con vapor	Color	Ligeramente amarillo
	Aspecto	Oleoso límpido
	Olor	Ligeramente a limón con un toque a hierba luisa
	Sabor	Astringente

### 4.2 RENDIMIENTO

Los resultados originales de la prueba de Rendimiento se presentan en el Anexo 5. El análisis estadístico mediante la prueba de ANVA se muestra en el Cuadro 11.

**Cuadro 11** Análisis de Varianza de los Resultados de Densidad Relativa del Aceite Esencial del presente estudio

<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Pr &gt; F</b>	<b>Significancia<sup>1</sup></b>
M <sup>2</sup>	1	1,060	<,0001	**
E <sup>3</sup>	1	0,257	<,0001	**
A <sup>4</sup>	1	0,142	<,0001	**
M*E	1	0,123	0,0001	**
M*A	1	0,168	<,0001	**
E*A	1	0,001	0,521	Ns
M*E*A	1	0,000854	0,575	Ns
Error	8	0,002		
TOTAL	15			
CV (%)	13,381			

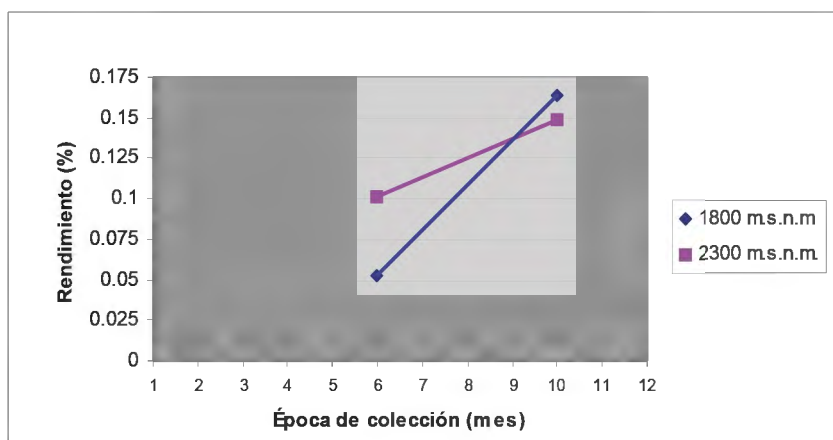
El análisis estadístico de los resultados de rendimiento del aceite esencial mediante la prueba del ANVA, demuestra que existen diferencias altamente significativas entre los diferentes tratamientos, debido tanto a los métodos de destilación empleados como a los diferentes estados vegetativos de la planta y las distintas altitudes de colección. Los gráficos de las variaciones de rendimiento se presentan en las Figuras 5 y 6.

<sup>1</sup> Establece si las diferencias son: \*\* (altamente significativas), \* (significativas) ó Ns (No significativas).

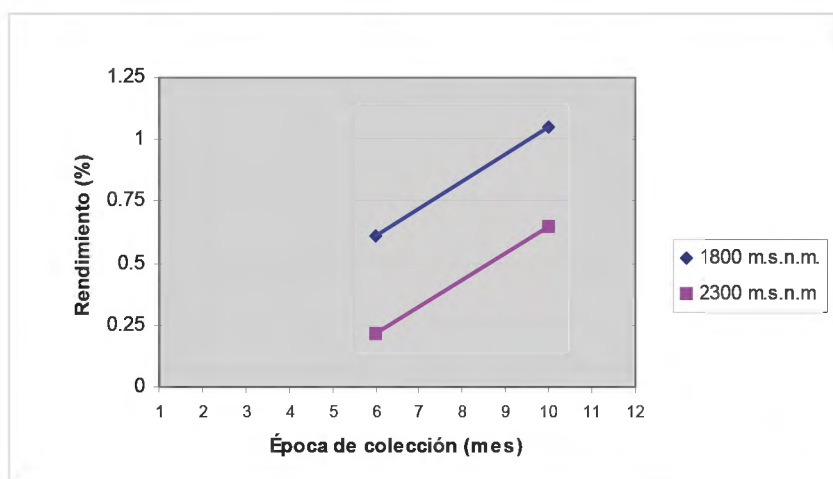
<sup>2</sup> M: Método de destilación.

<sup>3</sup> E: Estado vegetativo.

<sup>4</sup> A: Altitud.



**Figura 5** Variación del rendimiento del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua



**Figura 6** Variación del rendimiento del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación con agua

En los gráficos se observa que, en ambos métodos, el rendimiento aumenta cuando el material vegetal procede de individuos que se encuentran en floración al momento de la colecta, en este caso, del mes de Octubre, y disminuye cuando se encuentran sin flores, de muestras obtenidas en el mes de Junio. En general, el rendimiento de aceite esencial es mayor cuando las hojas son

colectadas de los árboles ubicados a una altura de 1800 m.s.n.m. Esto sucede tanto cuando el material vegetal es colectado de individuos en floración, como cuando es colectado de individuos que carecen de flores. Por otro lado, el rendimiento es superior cuando se emplea el método de destilación con agua.

#### 4.2.1 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA VARIABLE *MÉTODO DE DESTILACIÓN* EN LOS VALORES DE RENDIMIENTO

Pruebas estadísticas más estrictas confirman que las diferencias entre los rendimientos promedios obtenidos mediante la destilación con agua (0,631 %) y mediante la destilación por arrastre con vapor (0,116 %) son altamente significativas.

Los valores del presente estudio demuestran que el rendimiento de aceite, obtenido mediante el método de destilación con agua fue mayor frente al obtenido mediante el método por arrastre con vapor. Incluso, el valor de rendimiento para la destilación con agua (0,631 %) es superior al mencionado por Malagón *et al.* (2003), el cual anota un rendimiento de 0,32 % para la especie en estudio empleando el mismo método.

Las diferencias en los valores de rendimiento de aceite esencial se deben, probablemente, a que en la destilación con agua, el contacto directo y el libre movimiento que tuvieron las partículas de material vegetal con y en la misma haya favorecido la extracción. Por otro lado, un factor que pudo influir en el menor rendimiento en el método de arrastre con vapor es que las hojas hayan actuado como un bloque que impidió que la acción de arrastre del aceite sea más eficiente, para un tiempo de destilación constante. Según Peralta (1988), este comportamiento es común en este método ya que las hojas tienden a apelmazarse entre ellas, lo cual afecta negativamente el rendimiento. Otro factor a tener en cuenta es la diferencia del método empleado para la trituración de las hojas (triturado manual en la destilación por arrastre con vapor y triturado mecánico para destilación con agua). Si bien Guenther (1948), menciona que es durante el triturado con cuchillas donde se dan las mayores pérdidas de aceite esencial, también es cierto que esta acción permite que haya mayor superficie de contacto expuesta y por lo tanto, la liberación de los aceites se dé en mayor grado, aumentando así el rendimiento.

#### 4.2.2 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ESTADO VEGETATIVO* EN LOS VALORES DE RENDIMIENTO

Las diferencias entre los rendimientos promedios obtenidos de las muestras con flores (0,500 %) y sin flores (0,247 %) son altamente significativas; este resultado es confirmado mediante pruebas estadísticas más estrictas.

De los resultados se observa que el mayor rendimiento se obtuvo cuando la materia prima provenía de árboles que se encontraban en floración. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Bruneton (2001) y Valencia (1995), entre otros, los cuales mencionan que una de las posibles funciones de los aceites esenciales sería la de actuar como atrayentes de agentes polinizadores, es decir, al emanar sus olores característicos estarían cumpliendo un papel en la interacción animal-planta. Es probable que la producción de aceites sea más alta cuando los individuos se encuentran floreado ya que de esta manera estarían “llamando” a los vectores zoófilos (aves, abejas u otros insectos) para que se lleve a cabo la polinización y posterior fecundación.

#### 4.2.3 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ALTITUD* EN LOS VALORES DE RENDIMIENTO

Pruebas estadísticas más estrictas confirman las diferencias entre los rendimientos promedios obtenidos de las muestras colectadas en el lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m.) frente a las colectadas en el lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m) son altamente significativas. En el primer caso se obtuvo un rendimiento promedio de 0,468 % y en el segundo, 0,279 %.

De acuerdo a lo revisado en Crop & Food Research (2001), los factores ecológicos, climáticos y edafológicos también influyen en el rendimiento y en la calidad del aceite esencial.

Cabe mencionar que, el lugar de colección a los 1800 m.s.n.m fue cercano a una fuente de agua lo que posiblemente haya influido en que el rendimiento de aceite esencial haya sido mayor. Asimismo, el lugar de colección 2, a 2300 m.s.n.m, se caracterizaba por ser una zona alterada, la cual era a su vez un camino de paso, empleado por personas y animales, esto puede ser un factor que haya afectado negativamente los valores de rendimiento, al no encontrarse los individuos en un sitio óptimo para que expresen todo su potencial de producción de aceites.



En general, los valores de rendimiento obtenidos bajo los distintos tratamientos se encuentran dentro del rango mencionado por Arteaga (1973). Además, estos valores son similares a lo rendimientos que presentan otras especies de la familia Myrtaceae de las que se obtiene aceite esencial con valor comercial (como *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora*).

### 4.3 DENSIDAD RELATIVA

Los resultados originales de la prueba de Densidad Relativa del aceite obtenido en el presente estudio se presentan en el Anexo 6. El análisis estadístico mediante la prueba de ANVA se muestra en el Cuadro 12.

**Cuadro 12** Análisis de Varianza de los Resultados de Densidad Relativa del Aceite Esencial del presente estudio

<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Pr &gt; F</b>	<b>Significancia<sup>1</sup></b>
M <sup>2</sup>	1	0,000352	<,0001	**
E <sup>3</sup>	1	0,0000156	<,0001	**
A <sup>4</sup>	1	0,00180	<,0001	**
M*E	1	0,000245	<,0001	**
M*A	1	0,000129	<,0001	**
E*A	1	0,00211	<,0001	**
M*E*A	1	0,000107	<,0001	**
Error	8	5,42E-20		
TOTAL	15			
CV (%)	2,57909E-8			

El análisis estadístico de los resultados de densidad relativa mediante la prueba del ANVA, demuestra que las diferencias entre los distintos tratamientos, son altamente significativas. Al evaluar cada uno de los factores en estudio se observa que existen diferencias altamente

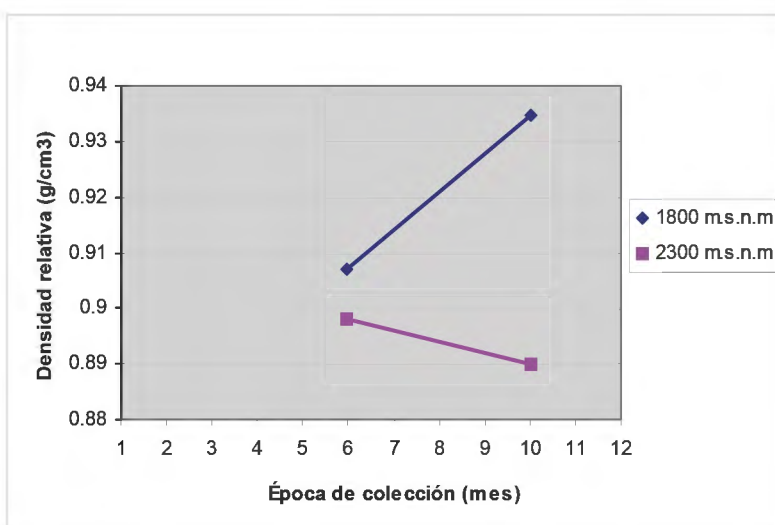
<sup>1</sup> Establece si las diferencias son: \*\* (altamente significativas), \* (significativas) o Ns (No significativas).

<sup>2</sup> M: Método de destilación.

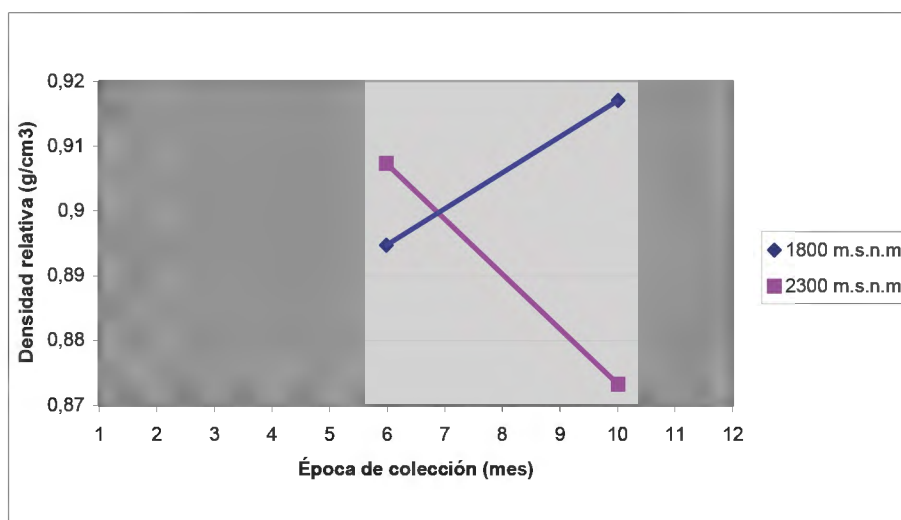
<sup>3</sup> E: Estado vegetativo.

<sup>4</sup> A: Altitud.

significativas en los valores de densidad relativa del aceite esencial obtenidos mediante ambos métodos (con agua y por arrastre con vapor). De igual manera, los valores de densidad del aceite esencial obtenidos de las muestras colectadas en distintos estados vegetativos y a diferentes altitudes también presentan diferencias altamente significativas. Esta situación se presenta igualmente en las diferentes interacciones entre las variables antes mencionadas. Los gráficos con las variaciones de densidad relativa se muestran en las Figuras 7 y 8.



**Figura 7** Variación de la densidad relativa del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua



**Figura 8** Variación en la densidad relativa del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación con agua

En las Figuras 7 y 8 se observa que para el aceite esencial obtenido del material vegetal colectado a 1800 m.s.n.m., la densidad relativa aumenta con la floración y es mayor que la densidad relativa del aceite esencial obtenido del material vegetal colectado a 2300 m.s.n.m. (a excepción del aceite esencial que fue obtenido mediante destilación con agua y que empleó material vegetal proveniente de individuos sin flores). La densidad relativa del aceite esencial obtenido del material vegetal colectado a los 2300 m.s.n.m. disminuye con la floración. Esta situación se presenta tanto para el método de destilación por arrastre con vapor como para el método de destilación con agua.

#### 4.3.1 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *MÉTODO DE DESTILACIÓN* EN LOS VALORES DE DENSIDAD RELATIVA

El método de destilación por arrastre con vapor presentó un valor de densidad de  $0,907 \text{ g/cm}^3$ , el método con agua presentó un valor de densidad de  $0,898 \text{ g/cm}^3$ . Estas diferencias altamente significativas quedan confirmadas mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Las diferencias en los valores de densidad pueden deberse a que el material vegetal que fue destilado con agua fue sometido previamente a la acción mecánica de un triturador, mientras que las hojas que fueron destiladas por arrastre con vapor fueron trituradas manualmente. Esta diferencia en el método de trituración pudo ocasionar que ciertos compuestos volatizaran antes de ingresar al equipo lo que generó que la densidad del aceite obtenido mediante destilación con agua sea menor que el que se obtuvo mediante arrastre con vapor. Respecto a esto, Guenther (1948) citando a Von Rechenberg, menciona que las mayores pérdidas de aceites volátiles por evaporación y oxidación se dan cuando se tritura el material antes de la destilación, especialmente cuando el triturado se realiza empleando cuchillas o molinos.

Por otro lado, como anota Arteaga (1980), en la destilación con agua es casi imposible mantener una igualdad de calefacción lo que pudo ocasionar que no se llegaran a volatizar compuestos de mayor peso molecular lo que sí pudo haber sucedido en el otro método.

Asimismo, es importante tener en cuenta que Guenther (1948), anota que el valor de densidad es un indicador de la calidad y pureza del aceite, cuanto más alto el valor, el aceite es más puro, es decir, el componente activo se encuentra en mayor proporción. Si esto se compara con lo dicho por algunos autores que mencionan que mediante el método por arrastre con vapor de agua el aceite obtenido es de mejor calidad, entonces la densidad relativa del aceite obtenido mediante este método, indicaría que éste sería de mejor calidad que el que se obtuvo mediante la destilación con agua. Cabe mencionar que ambos valores de densidad relativa son inferiores a la densidad del agua, lo que indicaría la presencia de alcoholes, aldehídos y cetonas (Ver Cuadro 4).

#### 4.3.2 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ESTADO VEGETATIVO* EN LOS VALORES DE DENSIDAD RELATIVA

El aceite esencial obtenido de las muestras que provenían de individuos que se encontraban en floración al momento de la colecta tiene una densidad de  $0,904 \text{ g/cm}^3$  mientras que la densidad del aceite que provenía de muestras de individuos sin flores fue de  $0,902 \text{ g/cm}^3$  siendo la diferencia altamente significativa, lo cual queda confirmado mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Esta diferencia en la densidad puede deberse a que en el momento de la floración la planta biosintetiza compuestos químicamente diferentes (o quizá los mismos pero en diferentes concentraciones) a cuando se encuentra sin flores ya que, como fue mencionado anteriormente, los aceites esenciales actuarían como atrayentes de agentes polinizadores lo que ocasionaría que la planta fabrique otra clase de compuestos de mayor peso molecular y probablemente más olorosos como por ejemplo aldehídos, alcoholes, cetonas, etc., los cuales son los principales portadores del olor específico de los aceites esenciales según Valencia (1995).

#### 4.3.3 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ALTITUD* EN LOS VALORES DE DENSIDAD RELATIVA

El aceite esencial obtenido de las muestras que fueron colectadas a 1800 m.s.n.m tuvo una densidad de 0,913 g/cm<sup>3</sup> mientras que la densidad del aceite que fue obtenido de muestras colectadas a 2300 m.s.n.m fue de 0,892 g/cm<sup>3</sup> siendo ésta una diferencia altamente significativa lo cual queda confirmado mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Las diferencias en los valores de densidad del aceite pueden deberse a las distintas condiciones ecológicas (clima, tipo de suelo, horas de luz, etc.) que imperan en las zonas de colección las cuales, como ya fue mencionado anteriormente, influyen notablemente en la calidad del aceite esencial.

En general, se puede decir que los valores de densidad relativa obtenidos bajo los distintos tratamientos se encuentran dentro del rango mencionado por Guenther (1948). Además, estos valores son similares a los de otras especies de la familia Myrtaceae que poseen aceites esenciales de valor comercial, como el *Eucalyptus globulus* (cuya densidad fluctúa entre 0,91 y 0,93 g/cm<sup>3</sup>) y el *Eucalyptus citriodora* (cuya densidad fluctúa entre 0,87 y 0,88 g/cm<sup>3</sup>).

#### 4.4 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Los resultados originales de la prueba de Índice de refracción se presentan en el Anexo 7. El análisis estadístico mediante la prueba de ANVA se muestra en el Cuadro 13.

**Cuadro 13** Análisis de Varianza de los resultados de índice de refracción del aceite esencial del presente estudio

<i>Fuente de variación</i>	<i>GL</i>	<i>CM</i>	<i>Pr &gt; F</i>	<i>Significancia<sup>1</sup></i>
M <sup>2</sup>	1	0,000	0,372	Ns
E <sup>3</sup>	1	0,000	0,296	Ns
A <sup>4</sup>	1	0,000	0,001	**
M*E	1	0,000	0,678	Ns
M*A	1	0,000	0,233	Ns
E*A	1	0,000	0,182	Ns
M*E*A	1	0,000	0,064	Ns
Error	8	0,000		
TOTAL	15			
CV (%)	0,099			

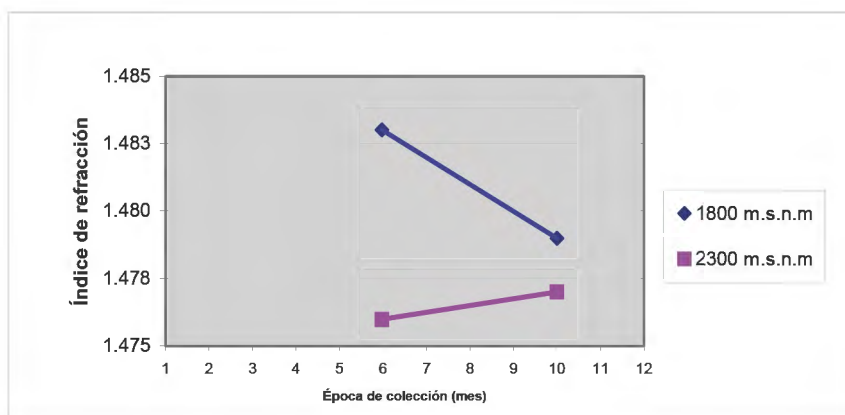
El análisis estadístico de los resultados de densidad relativa mediante la prueba del ANVA demuestra que, en general, no existen diferencias significativas en los valores de índices de refracción obtenidos dentro de los tratamientos. Sólo existen diferencias altamente significativas en los valores de índice de refracción para los aceites obtenidos de las distintas alturas de colección de materia prima. Los gráficos con las variaciones en el índice de refracción se muestran en las Figuras 9 y 10.

<sup>1</sup> Establece si las diferencias son: \*\* (altamente significativas), \* (significativas) o Ns (No significativas).

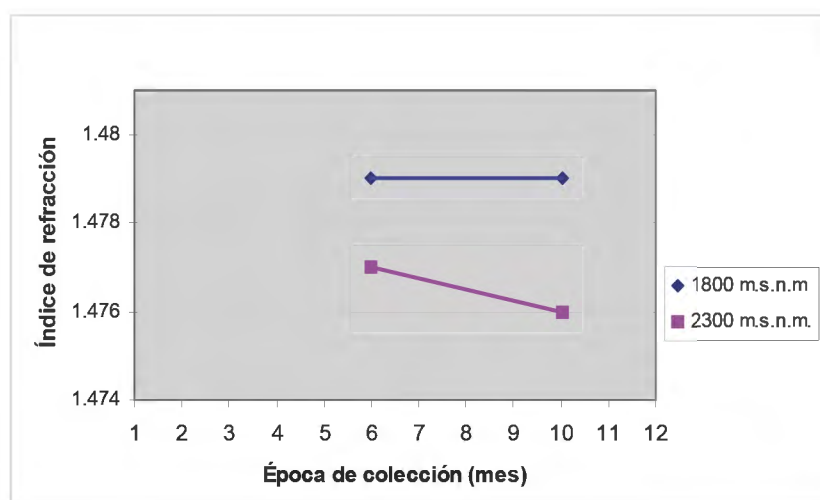
<sup>2</sup> M: Método de destilación.

<sup>3</sup> E: Estado vegetativo.

<sup>4</sup> A: Altitud.



**Figura 9** Variación en el índice de refracción del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua.



**Figura 10** Variación del índice de refracción del aceite esencial obtenido mediante el método por destilación con agua

En las Figuras 9 y 10 se observa que para el método de destilación por arrastre con vapor, el índice de refracción disminuye con la floración para el caso del aceite esencial obtenido de material vegetal colectado en el lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m) mientras que para el aceite esencial obtenido de material vegetal colectado en el lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m),

aumenta el valor de índice de refracción. Por otro lado, para el método de destilación con agua, el índice de refracción del aceite esencial obtenido de material vegetal colectado en el lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m) no varía de acuerdo con la época de colección mientras que el índice de refracción del aceite esencial obtenido de material vegetal colectado en el lugar de colección 2 disminuye con la floración.

#### 4.4.1 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ALTITUD* EN LOS VALORES DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción promedio para el lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m.) es de 1,480 y para el lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m) es de 1,476 siendo esta una diferencia altamente significativa confirmada mediante pruebas estadísticas más estrictas.

El índice de refracción está en estrecha relación con la calidad del aceite, a mayor índice de refracción es más puro y por lo tanto de mayor calidad. Según García Naranjo (2002), el grado de pureza está relacionado directamente con el porcentaje del principal componente del aceite esencial.

Es probable que el aceite obtenido de individuos en el lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m.), la concentración del componente activo sea mayor que el aceite obtenido de individuos del lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m.). Estas diferencias se deberían a las distintas condiciones ecológicas (clima, suelo, etc.) que imperan en las zonas de colección las cuales, como ya fue mencionado anteriormente, que influyen notablemente en la calidad del aceite esencial. Además, el lugar de colección a los 1800 m.s.n.m fue cercano a una fuente de agua lo que pudo influir en una variación de la composición y concentración de los compuestos químicos y por consiguiente, sobre los valores de índice de refracción.

Al comparar los valores de índice de refracción obtenidos con los de otras especies de la familia Myrtaceae que poseen aceites esenciales de valor comercial, se observa que el índice de refracción de *Myrcianthes rhopaloides* es similar (e incluso ligeramente superior) al de *Eucalyptus globulus* (cuyo índice de refracción fluctúa entre 1,46 y 1,47) y es superior al de *Eucalyptus citriodora* (cuyo índice de refracción fluctúa entre 1,45 y 1,46).



#### 4.5 SOLUBILIDAD EN ETANOL AL 70 % (V/V)

Los resultados originales de la prueba de solubilidad en etanol al 70% (v/v) se presentan en el Anexo 8. El análisis estadístico mediante la prueba de ANVA se muestra en el Cuadro 14.

**Cuadro 14** Análisis de Varianza para los resultados de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) del aceite esencial del presente estudio

<i>Fuente de variación</i>	<i>GL</i>	<i>CM</i>	<i>Pr &gt; F</i>	<i>Significancia</i> <sup>1</sup>
M <sup>2</sup>	1	71.403	<,0001	**
E <sup>3</sup>	1	0,203	<,0001	**
A <sup>4</sup>	1	0,303	<,0001	**
M*E	1	0,303	<,0001	**
M*A	1	0,203	<,0001	**
E*A	1	0,303	<,0001	**
M*E*A	1	0,203	<,0001	**
Error	8			
TOTAL	15			
CV (%)	0			

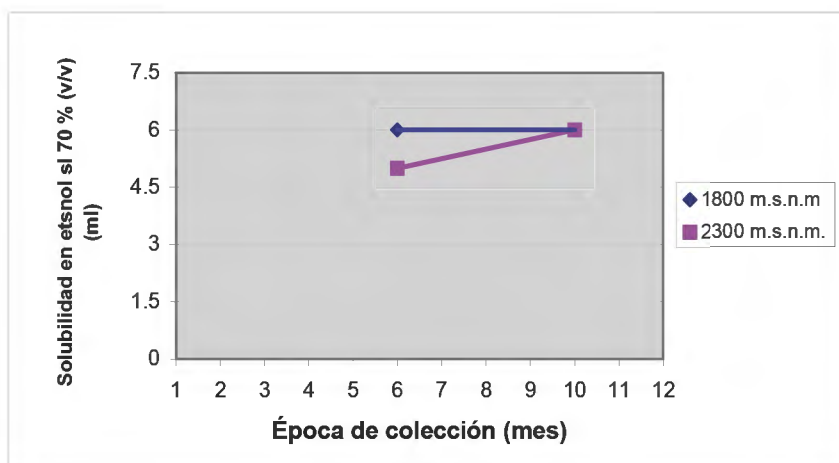
El análisis estadístico de los resultados de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) del aceite esencial, realizado mediante la prueba del ANVA, demuestra que existen diferencias altamente significativas entre los diferentes tratamientos. Al evaluar cada uno de los factores en estudio, se puede observar que existen diferencias altamente significativas entre los resultados de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) obtenidos tanto de los distintos métodos de destilación empleados, como entre los diferentes estados vegetativos de la planta y entre las distintas altitudes de colección. Esta situación se presenta también entre las interacciones método de destilación-estado vegetativo y método de destilación-altitud. Los gráficos que muestran las variaciones de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) se muestran en las Figuras 11 y 12.

<sup>1</sup> Establece si las diferencias son: \*\* (altamente significativas), \* (significativas) o Ns (No significativas).

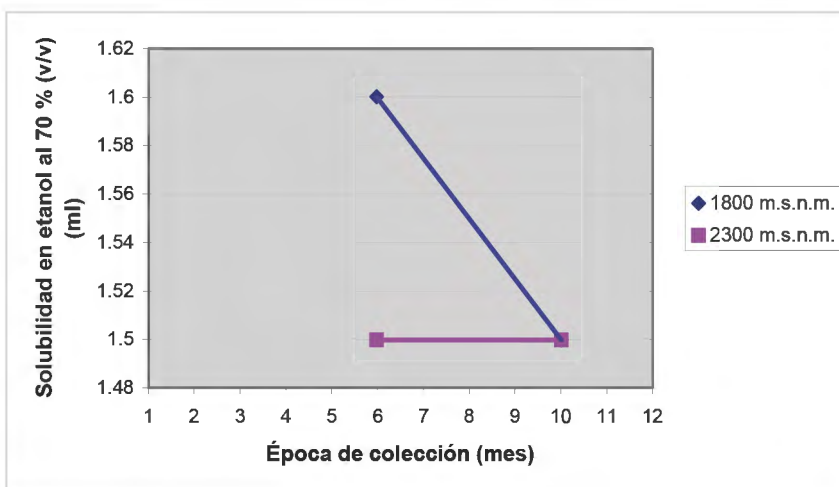
<sup>2</sup> M: Método de destilación.

<sup>3</sup> E: Estado vegetativo.

<sup>4</sup> A: Altitud.



**Figura 11** Variación de la solubilidad en etanol al 70 % (v/v) del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua



**Figura 12** Variación de la solubilidad en etanol al 70 % (v/v) del aceite esencial obtenido mediante el método de destilación con agua

En las Figuras 11 y 12 se observa que el aceite esencial obtenido mediante el método de destilación por arrastre con vapor es menos soluble, ya que este necesita mayor volumen de etanol para disolverse, pero mientras que para el lugar de colección 1 la solubilidad en etanol permanece constante con la floración, para el aceite esencial obtenido del material vegetal

colectado en el lugar de colección 2, aumenta. Por otro lado, el aceite esencial obtenido mediante destilación con agua es más soluble porque necesita menor volumen de etanol para disolverse. Mediante este método, la solubilidad en etanol al 70 % (v/v) del aceite esencial obtenido del material vegetal colectado en el lugar de colección 1 disminuye con la floración mientras que para el aceite esencial obtenido del material vegetal colectado en el lugar de colección 2, permanece es igual, tanto cuando el material vegetal se encuentra con flores como cuando carece de ellas.

#### 4.5.1 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *MÉTODO DE DESTILACIÓN* EN LOS VALORES DE SOLUBILIDAD EN ETANOL AL 70 % (V/V)

Para el método de destilación por arrastre con vapor el valor de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) fue de 5,75 mL en promedio, para el método de destilación con agua la solubilidad en etanol al 70 % (v/v) fue de 1,53 mL. Estas diferencias altamente significativas quedan demostradas mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Estas diferencias podrían deberse a que, siendo los aceites esenciales mezclas de diferentes compuestos químicos, en el método de destilación por arrastre con vapor el aceite obtenido esté conformado por compuesto químicos menos solubles que los compuestos que forman parte del aceite esencial obtenido mediante el otro método. Si es que los compuestos químicos son similares en ambos casos, es probable que se encuentren en proporciones diferentes en cada aceite esencial, lo que ocasiona la diferencia de solubilidad.

#### 4.5.2 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ESTADO VEGETATIVO* EN LOS VALORES DE SOLUBILIDAD EN ETANOL AL 70 % (V/V)

El aceite esencial obtenido de las hojas provenientes de individuos que se encontraban en floración al momento de la colecta posee un valor de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 3,75 mL; el aceite esencial obtenido de las hojas de los árboles que se encontraban sin flores al momento de la colecta, tuvieron un valor de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 3,53 mL

siendo estas diferencias altamente significativas, las cuales quedan confirmadas mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Esta diferencia en los valores de solubilidad en etanol dependiendo del estado vegetativo del material vegetal se debería a los distintos compuestos químicos que sintetiza la planta de acuerdo al estado vegetativo en que se encuentre. Podría ser que mientras la planta tiene flores, sintetiza compuestos más olorosos con el fin de atraer a los agentes polinizadores, en cambio, cuando el individuo carece de flores, la síntesis podría estar más abocada a la producción de compuestos repelentes con el fin de protegerse de agentes patógenos. Otro factor que podría influir sobre la solubilidad del aceite, es la concentración en que estos compuestos se encuentren en tal o cual aceite, y dependiendo de la solubilidad de cada uno de estos compuestos químicos, es que el aceite esencial en su conjunto, es más o menos soluble.

#### 4.5.3 INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ALTITUD* EN LOS VALORES DE SOLUBILIDAD EN ETANOL AL 70 % (V/V)

El aceite esencial obtenido del material vegetal que fue colectado en lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m) posee un valor de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 3,78 mL; el aceite esencial que fue obtenido del material vegetal colectado en el lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m) posee un valor de solubilidad en etanol al 70 % (v/v) de 3,50 mL, siendo estas diferencias altamente significativas, las cuales quedan confirmadas mediante pruebas estadísticas más estrictas.

Estas diferencias en los valores de solubilidad se deberían a que la especie, al encontrarse bajo la influencia de condiciones ambientales diferentes (diferente tipo de suelo, temperatura, etc.) responde a esas influencias, sintetizando otro tipo de compuestos químicos dependiendo del lugar donde se encuentre. Al respecto, Crop & Food Research (2003) menciona que tanto los factores climáticos (horas de luz solar, temperatura, entre otros) como los factores edafológicos (pH, estructura del suelo, etc.) son factores que contribuyen en las diferencias de contenido, composición y calidad del aceite esencial.

Al comparar los resultados de solubilidad en alcohol obtenidos bajo los distintos tratamientos con los valores de solubilidad en etanol de los aceites esenciales comerciales provenientes de

otras especies de la familia Myrtaceae, se observa que el aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* es menos soluble en etanol al 70 % (v/v) que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y que el de *Eucalyptus citriodora*. Mientras que en el caso de *Myrcianthes rhopaloides* se tienen valores que fluctúan entre 1,53 mL y 5,75 mL (dependiendo del método, la época de colección y la altitud), para el caso de *Eucalyptus globulus*, los valores fluctúan entre 1,5 y 3 mL y para el caso de *Eucalyptus citriodora*, entre 1,3 y 1,7 mL.

#### **4.6 PODER ROTATORIO ESPECÍFICO**

La rotación óptica del aceite esencial obtenido fue de  $0,498^\circ$  (L). Martínez citado por Chacón (2003), menciona que las esencias pobres en oxígeno son más activas a la luz polarizada; esto indicaría que el aceite esencial es rico en oxígeno, es decir, habría presencia de aldehídos, alcoholes y cetonas.

Al comparar el valor de rotación óptica del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* con valores de rotación óptica que presentan otras especies pertenecientes a la familia Myrtaceae y que poseen aceites esenciales de valor comercial (como *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora*), se observa que la rotación óptica del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* se encuentra dentro del rango que presentan ambas especies del género *Eucalyptus*.

#### **4.7 CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASA (CG-MS)**

Los principales compuestos hallados en la cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS), realizada a los aceites que se obtuvieron de los distintos tratamientos, son mencionados en los cuadros 15, 16, 17 y 18. Los resultados de cromatografía originales, los cuales constan de una relación completa de los compuestos hallados en cada uno de los compuestos analizados, así como el cromatograma respectivo, se encuentran en el Anexo 9.

**Cuadro 15** Principales compuestos hallados en el aceite esencial de “Lanche” obtenido de individuos en floración (1800 m.s.n.m.)

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Área (unid<sup>2</sup>)</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Peso molecular</b>	<b>%</b>
Z-citral	22,89	3 461 804 288	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	16,68
E-citral	24,02	3 325 385 472	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	16,02
Gamma dodecalactone	26,28	2 488 688 896	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	11,99
Neryl acetate	27,12	1 685 995 136	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	196	8,12
Methyl geranate	25,82	958 981 120	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	182	4,62

**Cuadro 16** Principales compuestos hallados en el aceite esencial de “Lanche” obtenido de individuos sin flores (1800 m.s.n.m.)

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Área (unid<sup>2</sup>)</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Peso molecular</b>	<b>%</b>
Gamma dodecalactone	26,20	429 823 456	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	13,94
E-citral	23,87	374 935 616	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	12,16
2,6 octadien-1-ol,3,7dimethyl,(Z)	22,75	278 865 696	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	9,04
Z-citral	22,26	277 222 304	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	8,99
Neryl acetate	27,12	170 260 704	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	196	5,52

**Cuadro 17** Principales compuestos hallados en el aceite esencial de “Lanche” obtenido de individuos en floración (2300 m.s.n.m.)

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Área (unid<sup>2</sup>)</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Peso molecular</b>	<b>%</b>
E-citral	23,87	181 999 200	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	20,32
Z-citral	22,76	133 627 528	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	14,92
Beta Citronellol	22,25	124 246 544	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156	13,87
L-limonene	13,80	77 250 368	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	8,62
Citronellyl acetate	26,73	52 787 588	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	5,89

**Cuadro 18** Principales compuestos hallados en el aceite esencial de “Lanche” obtenido de individuos sin flores (2300 m.s.n.m.)

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Área (unid<sup>2</sup>)</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Peso molecular</b>	<b>%</b>
Beta Citronellol	22,33	1 726 174 848	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156	21,63
E-citral	23,94	1 177 512 320	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	14,75
Z-citral	22,82	825 494 592	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	10,34
Methyl geranate	25,81	697 844 416	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	182	8,74
Citronellyl acetate	26,76	424 244 256	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	5,32

Se puede observar de los cuadros anteriores que los monoterpenos oxigenados son los que se encuentran en mayor cantidad en el aceite esencial obtenido en los diferentes tratamientos, y son los que le conferirían sus diversas características fisicoquímicas.

En el Cuadro 15, para el aceite esencial del lanche en floración, a 1800 m.s.n.m., los compuestos predominantes fueron el Z-citral y el E-citral (un monoterpeno que posee un grupo aldehído en su estructura), pero en el Cuadro 16, que comprende el análisis del aceite cuando fue obtenido de individuos del mismo lugar de colección pero cuando los individuos no tenían flores, se aprecia que la concentración de estos compuestos disminuye considerablemente y más bien, es el compuesto dodecalactona el que predomina en este aceite. Esto sucedería probablemente a que la planta, si bien “fabrica” los mismos compuestos, lo hace en diferente concentración de acuerdo a la época, quizá para atraer a otro tipo de polinizadores que se sentirían atraídos por algún compuesto del aceite, o quizá porque mientras que durante la época de floración se encarga de biosintetizar mayor concentración de compuestos que atraigan agentes polinizadores, cuando carece de flores, sintetiza otros en mayor proporción para protegerse de ataques de agentes patógenos o para reducir la competencia por otras especies.

Cabe anotar que el citral también es conocido como geranial, el cual fue reportado por Malagón *et al* (2003) como uno de los compuestos predominantes en la especie *Myrcianthes rhopaloides*, en un estudio llevado a cabo en Ecuador. Según Duke (1992), el citral ha presentado acción antihistamínica, antiséptica, bactericida, fungicida, herbicida, e incluso podría ser usado en la industria de la perfumería. Según Arteaga (1973), el citral, también encontrado en el aceite de zacate limón, ha sido empleado para sintetizar vitamina A.

Asimismo, el compuesto de doce carbonos llamado gama-dodecalactona, que según The Cambridge Soft (2006), es empleado en la industria de saborizantes y perfumería, no ha sido reportado antes para esta especie.

En cuanto al aceite obtenido de los individuos del lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m), se puede notar también la presencia del compuesto citral (en sus configuraciones Z y E) pero en mucha menor concentración que en los casos anteriormente explicados. Sin embargo, se debe resaltar la presencia de los compuestos Beta citronelol y limoneno, los cuales no se encuentran presentes en el aceite obtenido de la destilación de las hojas de los individuos que se encontraban en el lugar de colección 1 (al menos no en gran concentración). El limoneno, si bien está presente, tampoco se encuentra en una forma predominante, tal como lo indican diversos autores para las distintas especies del género *Myrcianthes*. Malagón *et. al* (2003), ya había anotado que *M. rhopaloides* era una excepción. Cabe agregar que Duke (1992) reporta las siguientes actividades para el citronelol: bactericida, fungicida, candidicida, fungicida, herbicida, también empleado para la industria de perfumes.

Por otro lado, es importante notar la ausencia del compuesto gama-dodecalactona en el aceite esencial obtenido de los individuos del lugar de colección 2, el cual sí fue encontrado en el primer caso. Esto se debería a la diferencia de altitud y a los diversos factores abióticos que predominan en ambas zonas y que influyen en las características del aceite esencial obtenido.

El citral es empleado en la industria alimentaria para dar el sabor a limón a ciertos productos como jugos, refrescos, etc. La gama-dodecalactona es un compuesto con un ligero olor a durazno y es empleado también en la industria alimentaria para la elaboración de jugos de durazno, jaleas y mermeladas, bebidas alcohólicas, entre otros. El citronelal, en cambio, es empleado en la industria de perfumería y en la industria de jabones.



## 5. *CONCLUSIONES*

- En ambos métodos de destilación, el rendimiento aumenta cuando los individuos se encuentran en floración y disminuye cuando las hojas provienen de individuos sin flores. De igual manera, el rendimiento es mayor cuando el material vegetal es colectado a menor altitud, debido a las características del sitio.
- El rendimiento de aceite esencial es mayor cuando se emplea el método de destilación con agua. De igual manera, el rendimiento es mayor cuando los individuos son colectados al momento de la floración a 1800 m.s.n.m.
- Para muestras de 1800 m.s.n.m, la densidad relativa del aceite esencial aumenta y es mayor con la floración, mientras que para muestras de 2300 m.s.n.m., disminuye. Asimismo, la densidad relativa del aceite esencial es mayor en el método de destilación por arrastre con vapor que en el método de destilación con agua.
- El índice de refracción está influenciado por la altitud del lugar de colección, afectando la composición química del aceite esencial.
- El método de destilación empleado influye en la solubilidad del aceite esencial en etanol al 70% (v/v), siendo más soluble cuando la destilación se realiza con agua. El estado vegetativo y la altitud también influyen en los valores de solubilidad en etanol, siendo más soluble cuando el material carece de flores y es colectado a mayor altitud.

- La composición del aceite esencial varía con la altitud del lugar de colección. A los 1800 m.s.n.m., los componentes predominantes son citral y gama-dodecalactona. A los 2300 m.s.n.m, los componentes predominantes son citral y beta – citronelol.

## **6. RECOMENDACIONES**

- Realizar más estudios con otros parámetros como: edad de los árboles, nivel de las hojas en la copa de los árboles, hojas jóvenes vs. hojas maduras, tiempo de almacenamiento de las hojas, tiempo de extracción, suelos, etc.
- Realizar un estudio de prefactibilidad técnico-económico a fin de determinar el potencial de la especie con fines industriales.
- Informar a los pobladores locales sobre las características y utilidades de esta especie para fines industriales, así como métodos de propagación, a fin de fomentar un aprovechamiento sostenible del recurso forestal.

## BIBLIOGRAFÍA

**Arteaga, A.** 1980. Estudio comparativo de tres métodos de extracción de aceite esencial de limón sutil (*Citrus aurantifolia*). Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Lima, PE, UNALM.

**Arze, J., López, J., France-Ida, J., Hélene, G., Guy, C.** 2005. Essential Oils from Bolivia. VII. Myrtaceae: *Myrcianthes osteomeloides* (Rusby) Mc Vaugh and *Myrcianthes pseudomato* (Legrand) Mc Vaugh. Journal of Essential Oil Research (JEOR) Jan-Feb 2005. Consultado 15 ago. 2006. Disponible en: [http://www.findarticles.com/p/articles/mi\\_qa4091/is\\_200501/ai\\_n9474248](http://www.findarticles.com/p/articles/mi_qa4091/is_200501/ai_n9474248)

**Avanza, M., Ricciardi, G., Ricciardi, A.** 2006. Fitoquímica de las Mirtáceas de los Géneros *Myrcianthes* y *Eugenia* del Nordeste. Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Corrientes, AR. Consultado 15 ago. 2006. Disponible en: [http://www.plantasmedicinales.org/archivos/mirtaceas\\_fitoquimica.pdf](http://www.plantasmedicinales.org/archivos/mirtaceas_fitoquimica.pdf)

**Bell, E.** 1980. The possible significance of secondary compounds in plants. Secondary plant products. Bell E.A. & Charlwood B.V. (Eds.). Encyclopedia of plant physiology. New York, US. (New series, vol. 8).

**Biocomercio Perú.** 2006. Programa de Promoción de Bienes y Servicios de la Biodiversidad Nativa del Perú (en línea). Consultado 20 ago. 2006. Disponible en: <http://www.biocomercioperu.org/>

**Brako J., Zarucchi, L.** 1993. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. 1286 p. (Missouri Botanical Garden Series).

**Bruneton, J.** 2001. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2ª ed. Zaragoza, ES. Ed. Acribia. 1099 p.

**Calzada, J.** 1969. Introducción a la estadística. Lima, PE. Ed. Jurídica

\_\_\_\_\_. 1970. Métodos estadísticos para la investigación. Lima, PE. Ed. Jurídica.

**Cambridgesoft Life Science Enterprise Solutions.** 2006. Consultado 20 ago. 2006. Disponible en : <http://www.cambridgesoft.com>

**Carrizales, S., Soto, M.** 1979. La Fitoquímica en la Investigación Forestal. Ciencia Forestal. Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales no. 22 Vol. 4 nov.-dic. MX.

**Centro de Comercio Internacional.** 1986. Aceites esenciales y oleorresinas. Estudios de distintos productores y de mercados importantes. Estudio de mercado financiado por el Gobierno de Dinamarca. Ginebra, CH.

**Centro de Investigación en Geografía Aplicada (CIGA).** 1991. Cuadernos de Geografía Aplicada. 1era. Parte: "El medio natural". Proyecto de Desarrollo Rural Integral de la Sierra Central del Departamento de Piura. Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Humanidades. Lima, PE.

**Codex Alimentarius. Normas Alimentarias FAO/OMS.** 2006. Methods for Evaluating Appearance and Physical Properties. Consultado 20 ago. 2006. Disponible en: [www.codexalimentarius.net/index\\_es.stm](http://www.codexalimentarius.net/index_es.stm)

**Crop & Food Research.** 2001. Essential oils and their production (en línea). New Zealand Institute for Crop & Food Research Institute (39). Consultado 7 jun. 2006. Disponible en: <http://www.crop.cri.nz/home/products-services/publications/broadsheets/039essentialoils.pdf>

**Chacón, T.** (2003). Características del aceite esencial de “Palo rosa” (*Aniba rosaedora* Ducke) obtenido por dos métodos de destilación. Tesis Ing. Forestal. Lima, PE. UNALM.

**Domínguez, X.** 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional (AID). MX. Ed. Limusa

**Duke, J.** 1992. Handbook of biologically active phytochemicals and their activities. US. CRC Press.

**Encyclopædia Britannica (en línea).** 2006. Consultado 30 mayo 2006. Disponible en: <http://www.britannica.com/search?query=essential+oils&ct=>

**Esoteric Oils CC and Salamander Concepts (Pty) Ltd.** 2006. Consultado 17 ago. 2006. Disponible en: <http://www.essentialoils.co.za>

**Flavouring Agents Database.** 2006. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Base de Datos FAO (en línea). Consultado 17 ago. 2006. Disponible en: [http://apps3.fao.org/jecfa/flav\\_agents/flavag-q.jsp](http://apps3.fao.org/jecfa/flav_agents/flavag-q.jsp)

**Fundación para la Innovación Agraria del Gobierno de Chile.** 2003 Boletín de Plantas Medicinales y Aromáticas (en línea) no. 8, jun. 2003. Consultado 17 ago. 2006. Disponible en: <http://www.fia.gob.cl/difus/boletin/bpm/bpmjunio2003.pdf>

**García-Naranjo, L.** 2002. Características del aceite esencial de “Palo santo” (*Bursera graveolens* (H.B.K.) Triana & Planchon) obtenido por dos métodos de destilación. Tesis Ing. Forestal. Lima, PE. UNALM.

**Guenther, E.** 1948. The Essential Oils. Volume I-VI. 3ª ed. New York. US. Ed. Van Nostrand Company.

**INDECOPI (Instituto de Defensa del Consumidor y de la Propiedad Intelectual).** 2006. Biblioteca Virtual. Consultado 20 Agosto 2006. Disponible en: <http://bvindecopi.gob.pe>

**Kahatt, N.** 2006. Estudio Etnobotánico de Chalaco. Tesis Ing. Forestal y M.Sc. Lima, PE. UNALM.

**Kuma, E.** 2000. Destilación de aceites esenciales. Cadena Alimentaria. Revista para el procesamiento de alimentos a pequeña escala. National Lottery Charities Board. ITDG. Año 5, no. 5: 8-11.

**Lock, O.** 1994. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima, PE.Ed. PUCP.

**Malagón, O., Vila, R., Iglesias, J., Zaragoza, T., Cañigüeral, S.** 2003. Composition of the essential oil of four medicinal plants from Ecuador. Flavour and Fragrance Journal no. 18: 527 – 531. Consultado 6 abr. 2006. Disponible en : <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract/105561048/ABSTRACT>

**Mc Vaugh, R.** 1958. Flora of Peru. Botanical Series. Field Museum of Natural History. Vol 13(2). Chicago, US. (parte 4 publicación 861).

**Missouri Botanical Garden's VAST (Vascular Tropicos).** US, 2006. Base de Datos W3 TROPICOS (en línea). Consultado 15 Agosto 2006. Disponible en: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>

**Norma Técnica Peruana NTP 319.075: 1974.** Aceites esenciales: Determinación del Índice de refracción.

**Norma Técnica Peruana NTP 319.076: 1974.** Aceites esenciales: Determinación del poder rotatorio específico y desviación polarimétrica.

**Norma Técnica Peruana NTP 319.081: 1974.** Aceites esenciales: Determinación de la densidad y densidad relativa.

**Norma Técnica Peruana NTP 319.084: 1984.** Aceites esenciales: Determinación de la solubilidad en alcohol.

**Peralta, V.** 1988. Aceites esenciales: Extracción, Análisis y su Potencialidad en la Industria. Tesis Lic. en Química. Lima, PE. PUCP.

**Pezo, A.** 2003. Caracterización del aceite esencial de hojas de molle (*Schinus molle*) obtenido por dos métodos de destilación. Tesis Ing. Forestal. Lima, PE. UNALM.

**Rodríguez, L.** 2006. Contribución a la propagación de *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaugh "Lanche" en el caserío de Carpinteros, Chalaco – Morropón, Piura. Tesis Ing. Forestal. Lima, PE. UNALM



**Schery, R.** 1962. Plants for man. 6ª ed. New Jersey. US. Ed. Prentice-Hall

**The Good Scents Company.** 2006. Consultado 17 Agosto 2006. Disponible en:  
<http://www.thegoodscentscompany.com>

**Ulloa, C., Møller, P.** 2006. Árboles y arbustos de los Andes del Ecuador. Consultado 6 Abril 2006. Disponible en:  
[http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=121441](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=121441)

**Valencia, C.** 1995. Fundamentos de Fitoquímica. MX. Ed. Trillas.

# ANEXO 1

## CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE EN ESTUDIO



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES: FAX: 349-2041, TEF: 349-5647 / 349-5669, Anexo .203  
APDO.456 - LA MOLINA LIMA PERU



**LABORATORIO DE DENDROLOGÍA Y HERBARIO  
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**

### CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA

A solicitud del Srta. Gabriela Fontenla, se proporciona la identidad del espécimen indicado, el cual se halla depositado en el Herbario MOL, con la sigla consignada.

Colector : G.F. N°01  
Zona de colección : Piura, distrito de Chalaco, Caserío Lanche.  
Fecha : 4 de Octubre de 2005  
Nombre común : Desconocido.

NOMBRE CIENTÍFICO : *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaugh  
FAMILIA : Myrtaceae

Determinador:

**Carlos Reynel Rodríguez Ph. D.**  
Profesor Principal Dpto. Manejo Forestal  
Director del Herbario Forestal UNALM (MOL)



La Molina, 27 de Enero de 2006

\* ROGAMOS A LOS USUARIOS DE LOS SERVICIOS DEL HERBARIO FORESTAL (MOL)  
TENER ESPECIAL CUIDADO EN TRANSCRIBIR CORRECTAMENTE LOS NOMBRES  
PROPORCIONADOS.

## *ANEXO 2*

**FOTOGRAFÍA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO (MUESTRA CON FLORES)**



## *ANEXO 3*

### **FOTOGRAFÍAS DE ALGUNOS INDIVIDUOS COLECTADOS**

A. Individuo en Lugar de colección 1 (1800 m.s.n.m)

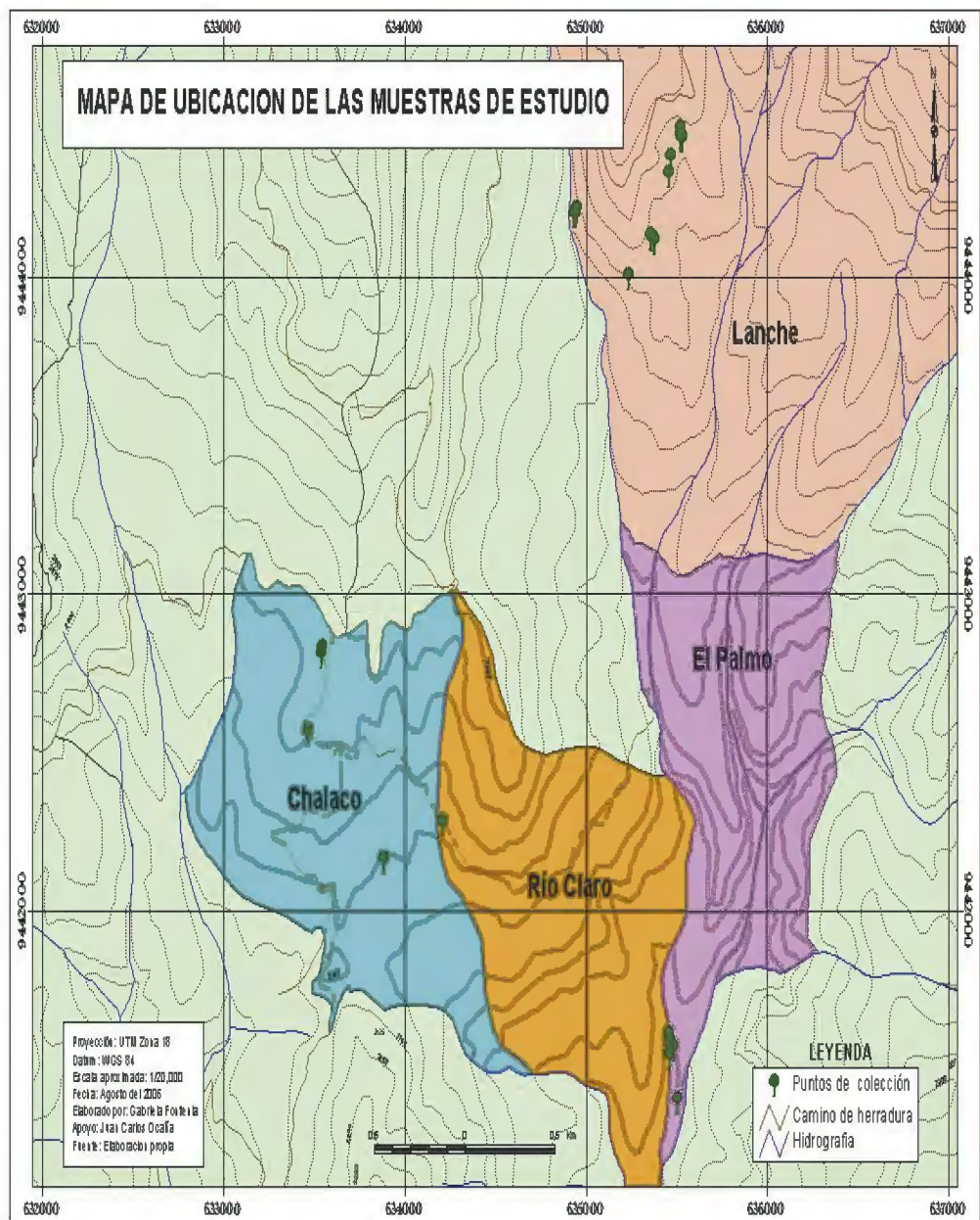


B. Individuo en Lugar de colección 2 (2300 m.s.n.m)



## ANEXO 4

### MAPA CON LOS PUNTOS DE COLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL PARA CADA UNO DE LOS CASERÍOS SELECCIONADOS



## ANEXO 5

### DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE RENDIMIENTO

Método de destilación	Estado vegetativo de la muestra	Lugar de colección	Volumen (ml)		Peso aceite (g)		Peso seco de las hojas (g)	Rendimiento	Rendimiento	Rendimiento promedio (%)
			1era. repetición	2da. repetición	1ra. repetición	2da. repetición		(%) 1era. Repetición	(%) 2da. repetición	
Arrastre con vapor	Sin flores	1	0,2	0,2	0,228	0,250	448,503	0,051	0,056	0,053
Arrastre con vapor		2	0,3	0,5	0,282	0,633	453,000	0,062	0,140	0,101
Arrastre con vapor	Con flores	1	0,7	0,7	0,743	0,743	456,183	0,163	0,163	0,163
Arrastre con vapor		2	0,8	0,7	0,786	0,548	451,628	0,174	0,121	0,1477

Método de destilación	Estado vegetativo de la muestra	Lugar de colección	Volumen (ml)		Peso aceite (g)		Peso seco de las hojas (g)	Rendimiento	Rendimiento	Rendimiento promedio (%)
			1era. repetición	2da. repetición	1era. repetición	2da. repetición		(%) 1era. repetición	(%) 2da. repetición	
Con agua	Sin flores	1	3,1	2,9	2,914	2,572	448,200	0,650	0,574	0,612
Con agua		2	0,8	0,8	0,954	0,954	431,458	0,221	0,221	0,221
Con agua	Con flores	1	5,1	4,8	4,969	4,313	445,055	1,116	0,969	1,043
Con agua		2	3	3,2	3,082	2,808	454,798	0,678	0,617	0,648

## ANEXO 6

### DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE DENSIDAD RELATIVA

<i>Método de destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Peso picnómetro (g)</i>	<i>Peso pic + aceite (g)</i>	<i>Peso aceite (g)</i>	<i>Vol aceite (ml)</i>	<i>Densidad aceite (g/cm<sup>3</sup>)</i>
Arrastre con vapor	Sin flores	1	9,698	9,7615	0,0635	0,07	0,9071
Arrastre con vapor		2	9,6992	9,8339	0,1347	0,15	0,898
Arrastre con vapor	Con flores	1	9,6964	9,8366	0,1402	0,15	0,9347
Arrastre con vapor		2	9,7006	9,8341	0,1335	0,15	0,89

<i>Método de destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Peso picnómetro (g)</i>	<i>Peso pic + aceite (g)</i>	<i>Peso aceite (g)</i>	<i>Vol aceite (ml)</i>	<i>Densidad aceite (g/cm<sup>3</sup>)</i>
Con agua	Sin flores	1	9,7003	9,8345	0,1342	0,15	0,8947
Con agua		2	9,7011	9,8372	0,1361	0,15	0,9073
Con agua	Con flores	1	9,6962	9,7879	0,0917	0,1	0,917
Con agua		2	9,7024	9,8334	0,131	0,15	0,8733



## ANEXO 7

### DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN

<i>Método de destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Grados Brix 1ra.repetición</i>	<i>Grados Brix 2da.repetición</i>	<i>Índice de refracción 1ra.repetición</i>	<i>Índice de refracción 2da.repetición</i>	<i>Índice de refracción promedio</i>
Arrastre con vapor	Sin flores	1	77,8	76	1,485	1,481	1,483
Arrastre con vapor		2	74,4	73,6	1,477	1,474	1,476
Arrastre con vapor	Con flores	1	75,4	75,4	1,479	1,479	1,479
Arrastre con vapor		2	74,6	74,6	1,477	1,477	1,477

<i>Método de destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Grados Brix 1ra.repetición</i>	<i>Grados Brix 2da.repetición</i>	<i>Índice de refracción 1ra.repetición</i>	<i>Índice de refracción 2da.repetición</i>	<i>Índice de refracción promedio</i>
Con agua	Sin flores	1	76	75	1,481	1,478	1,479
Con agua		2	74,6	74,6	1,477	1,477	1,477
Con agua	Con flores	1	75,8	72,2	1,480	1,479	1,479
Con agua		2	74	74,4	1,478	1,477	1,477

## ANEXO 8

### DATOS ORIGINALES DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN ETANOL AL 70 % (V/V)

<i>Método destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Solubilidad en etanol al 70% (v/v) (mL)</i>
Arrastre con vapor	Sin flores	1	6,0
Arrastre con vapor		2	5,0
Arrastre con vapor	Con flores	1	6,0
Arrastre con vapor		2	6,0

<i>Método destilación</i>	<i>Estado vegetativo</i>	<i>Lugar de colección</i>	<i>Solubilidad en etanol al 70% (v/v) (mL)</i>
Con agua	Sin flores	1	1,6
Con agua		2	1,5
Con agua	Con flores	1	1,5
Con agua		2	1,5

## *ANEXO 9*

### INFORMES DE ENSAYO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES-MASA PROPORCIONADOS POR LA SOCIEDAD DE ASESORAMIENTO TÉCNICO

INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE  
ENCONTRABAN EN FLORACION AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1-1800 M.S.N.M (CÓDIGO T4-O-CF)

INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE  
ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 1-1800 M.S.N.M (CÓDIGO T8-O-SF)

INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE  
ENCONTRABAN EN FLORACIÓN AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2-2300 M.S.N.M (CÓDIGO T2-L-CF)

INFORME DE ENSAYO PARA EL ACEITE ESENCIAL DE LANCHE OBTENIDO DE INDIVIDUOS QUE SE  
ENCONTRABAN SIN FLORES AL MOMENTO DE LA COLECTA EN EL LUGAR 2-2300 M.S.N.M (CÓDIGO T6-L-SF)



# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

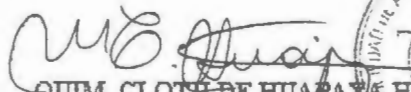
## INFORME DE ENSAYO N° 4824-2006

PRODUCTO : ACEITE ESENCIAL  
SOLICITADO POR : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO  
DIRECCION : CAMILO CARRILLO No. 325 - JESUS MARIA - LIMA  
FECHA DE RECEPCION : 01-06-06 (MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE)  
FECHA DE ANALISIS : 01-06-06  
SOLICITUD N° : 1160-2006

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: T4  
O-CF  
ESTADO / CONDICION : PRODUCTO LIQUIDO / TEMPERATURA AMBIENTE  
PRESENTACION : TUBO DE VIDRIO COLOR AMBAR CON TAPA DE  
POLIETILENO SIN LITOGRAFIAR CON ETIQUETA  
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 UNIDAD x 10 microlitros  
MUESTRA DIRIMENTE : NINGUNA ( A SOLICITUD DEL CLIENTE)

ANALISIS	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
Detección de aceite esencial	Se adjunta	AOAC Official Method 971.12 Nonvanillin Vanilla Volatiles in Vanilla Extract. Direct Gas Chromatographic Method (2000) Cap. 36 Pg 10

LIMA, 09 DE JUNIO DEL 2006

  
QUIM CLOTH DE HUAPAYA H.  
JEFE DIVISION TECNICA  
C.O.P N° 296



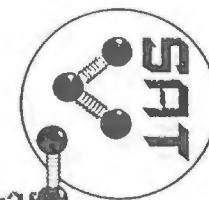
- PAG. 1 DE 1.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO EN BASE A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO LABORATORIO  
VALIDO POR 90 DIAS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA PROPORCIONADA  
QUEDA ABSOLUTAMENTE PROHIBIDA TODA REPRODUCCION PARCIAL DEL PRESENTE  
INFORME SIN LA AUTORIZACION PREVIA Y EXPRESA DE SAT S.A.C.

Cromatograma del Analisis para Aceites Esenciales

a total; 20758300209

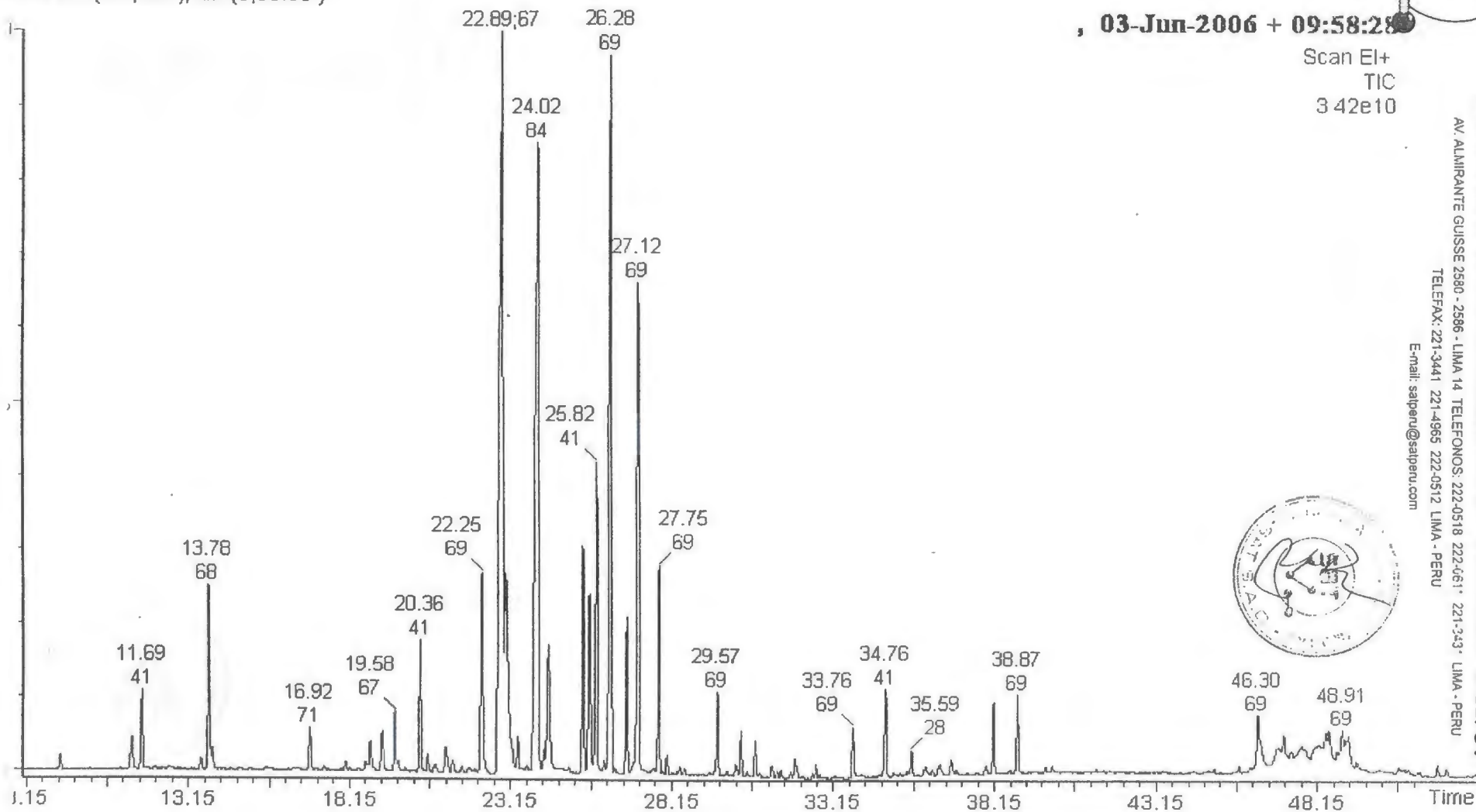
Codigo de la Muestra - T4 - 0 - CF



, 03-Jun-2006 + 09:58:28

Scan EI+  
TIC  
3.42e10

It-14 Sm (SG, 4x1); Sb (5,50.00 )



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.  
AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU  
TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU  
E-mail: [salperu@salperu.com](mailto:salperu@salperu.com)



# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

## Relacion de Aceites Esenciales Codigo de la Muestra T4 - O - CF

### Analisis Realizado por Espectrometria de MASAS

Date Acquisition Time : 03 / 06 / 06  
09 : 58 : 28 p.m.  
Chanel : A  
Operator : Manager  
Dilution Factor : 1.000000

- 1.- Alfa Thujene ( t = 8.74 )
- 2.- Alfa Pinene ( t = 9.20 )
- 3.- 1,6 - Octadien - 3 ol - 3,7 - Dimethyl - 2 - Amino Benzoate ( t = 11.39 )
- 4.- Beta Myrcene ( t = 11.69 )
- 5.- Furan, Tetrahydro 2 - 2 - Dimethyl - 5 - ( 1 - Methylethyl ) ( t = 12.09 )
- 6.- Pseudolimonene ( t = 12.57 )
- 7.- Delta 3 - Carene ( t = 12.83 )
- 8.- O - Cymene ( t = 13.54 )
- 9.- L - Limonene ( t = 13.78 )
- 10.- Beta - Phellandrene ( t = 13.87 )
- 11.- Beta Ocymene ( t = 14.45 )
- 12.- 2,6 Octadiene 2,7 - Dimethyl ( t = 14.71 )
- 13.- Gamma terpinene ( t = 15.07 )
- 14.- n - Octanol ( t = 15.56 )
- 15.- Alfa - Terpinolene ( t = 16.39 )
- 16.- P - Cymenyl ( t = 16.56 )
- 17.- Linalool ( t = 16.92 )
- 18.- Pinane 2,10 Epoxy ( t = 17.34 )
- 19.- Methyl Octanoate ( t = 17.92 )
- 20.- P - Mentha - Trans - 2,8 - Dien - 1 - ol ( t = 18.03 )
- 21.- P - Mentha - 2 - EN - 1 - ol ( t = 18.16 )
- 22.- 1,1' - Bicyclopropyl, 2,2,2',2' - tetramethyl ( t = 18.45 )
- 23.- Cyclohexanol, 2 - Methylene - 5 - ( 1 - Methylethenyl ) ( t = 18.66 )
- 24.- 1,6 Octadiene, 2,5 - Dimethyl -, ( E ) ( t = 18.81 )
- 25.- 2 - Cyclohexen - 1 - one, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylethenyl ) ( t = 18.91 )
- 26.- Citronella ( t = 19.20 )
- 27.- Cis - Verbenol ( t = 19.57 )
- 28.- Isopulegol ( t = 19.66 )
- 29.- Methyl 2 - Octenoate ( t = 19.89 )
- 30.- P - Mentha - 1,5 - Dien - 8 - ol ( t = 20.13 )
- 31.- 3 - Cyclohexene 1 - Carboxaldehyde, 2,4,6 Trimethyl ( t = 20.36 )
- 32.- 4 - Terpineol ( t = 20.59 )
- 33.- P - Cymene - 8 - ol ( t = 20.80 )
- 34.- Linalyl Propionate ( t = 21.14 )
- 35.- Cis - carveol ( t = 21.36 )
- 36.- 2 - Cyclohexen - 1 - ol, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylethenyl )-, Cis ( t = 21.63 )
- 37.- Photonol A ( t = 21.87 )
- 38.- 2,6 Octadien - 1 - ol, 3,7 Dimethyl , ( Z ) ( t = 22.26 )
- 39.- Z - Citral ( t = 22.89 )
- 40.- Neral dimethyl Acetal ( t = 23.00 )
- 41.- 6 - Octenoic acid, 3,7 - Dimethyl ( t = 23.38 )
- 42.- E - Citral ( t = 24.02 )
- 43.- 6 - Carbethoxy - 3 - Methyl - 1 - ( 5 - oxo - 3,4 - Dihydro - 2H - Pyrrolyl )  
2 - ciclohexene ( t = 24.33 )
- 44.- Geranial Dimethyl Acetal ( t = 25.40 )
- 45.- 6 - ( 3 - Methyl - 3 - cyclohexenyl ) - 2 - Methyl - 2,6 - Heptadienol ( t = 25.60 )
- 46.- Methyl Geranate ( t = 25.83 )





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

- 47.- E - Beta Terpinyl Acetate ( t = 26.05 )
- 48.- Gamma Dodecalactone ( t = 26.28 )
- 49.- Citronellyl Acetate ( t = 26.75 )
- 50.- Acid Geranic ( t = 26.96 )
- 51.- Neryl Acetate ( t = 27.12 )
- 52.- Geraniol Acetate ( t = 27.75 )
- 53.- Alfa Cubebene ( t = 28.00 )
- 54.- Beta Elemene ( t = 28.40 )
- 55.- Methyl Eugenol ( t = 28.53 )
- 56.- T - Caryophyllene ( t = 29.57 )
- 57.- Germacrene D ( t = 29.84 )
- 58.- Geranyl Acetone ( t = 30.13 )
- 59.- Aristolene ( t = 30.17 )
- 60.- Beta Farnesene ( t = 30.29 )
- 61.- Alfa Humulene ( t = 30.76 )
- 62.- Aromadendrene ( t = 30.89 )
- 63.- Bergamotene ( t = 31.25 )
- 64.- Alfa Amorphene ( 31.41 )
- 65.- 1,6 Cyclodecadiene, 1 - Methylene - 8 - ( 1 - Methylene ) - , [S - ( E,E ) ] ( t = 31.54 )
- 66.- Valencene 2 ( t = 31.84 )
- 67.- Farnesene ( t = 31.95 )
- 68.- Beta Bisabolene ( t = 32.17 )
- 69.- Gamma Cadinene ( t = 32.50 )
- 70.- Delta Cadinene ( t = 32.60 )
- 71.- 1S, Cis - Calamenene ( t = 32.72 )
- 72.- Alfa Muurolene ( t = 33.18 )
- 73.- D - Nerolidol ( t = 33.75 )
- 74.- Germacrene B ( t = 34.01 )
- 75.- Spathulenol ( t = 34.58 )
- 76.- Caryophyllene oxide ( t = 34.76 )
- 77.- Alfa Ylangene ( t = 34.99 )
- 78.- Cis - Alfa - Bisabolene ( t = 35.23 )
- 79.- Ledol ( t = 35.45 )
- 80.- Humulene oxide ( t = 35.59 )
- 81.- Cubenol ( t = 36.01 )
- 82.- Epsilon Cadinene ( t = 36.23 )
- 83.- Tau Cadinol ( t = 36.40 )
- 84.- Tau Muurolol ( t = 36.46 )
- 85.- Alfa Cadinol ( t = 36.81 )
- 86.- Selinen - 11 - EN - 4 - OL ( t = 36.97 )
- 87.- Bicyclo[5,1,0]Octan - 2 - one, 4,6 - Diisopropylidene - 8,8 - Dimethyl ( t = 37.88 )
- 88.- Farnesal ( Z,Z ) ( t = 38.12 )
- 89.- Farnesal ( E,E ) ( t = 38.87 )
- 90.- Methyl Farnesate ( t = 39.95 )
- 91.- Farnesyl Acetate ( t = 41.33 )
- 92.- Bicyclo[3,1,0]Hexan - 2 - One, 4 - Methyl - 1 - ( 1 - Methylene ) - , ( 1alfa, 4Beta, 5 alfa ) ( t = 44.96 )
- 93.- 3 - ( 1' - Isopropyl - 2',2' - Dimethylcyclopentyl ) - 1 - propanol ( t = 45.72 )
- 94.- RAC - 1,2,4 - Trimethyl - 3 - Nitrobicyclo[3.3.1] Nonan - 9 - one ( t = 46.30 )
- 95.- 1 - Methylene - 2B - Hydroxymethyl - 3,3 - dimethyl - 4B - ( 3 - Methylbutyl - 2 - enyl )  
cyclohexane ( t = 46.95 )

Nota : t = Tiempo de retencion en min.





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

## INFORME DE ENSAYO N° 4826-2006

PRODUCTO : ACEITE ESENCIAL  
SOLICITADO POR : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO  
DIRECCION : CAMILO CARRILLO No. 325 - JESUS MARIA - LIMA  
FECHA DE RECEPCION : 01-06-06 (MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE)  
FECHA DE ANALISIS : 01-06-06  
SOLICITUD N° : 1160-2006

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: T8  
0-SF

ESTADO / CONDICION : PRODUCTO LIQUIDO / TEMPERATURA AMBIENTE

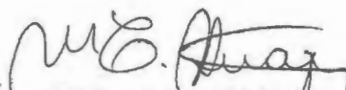
PRESENTACION : TUBO DE VIDRIO COLOR AMBAR CON TAPA DE POLIETILENO SIN LITOGRAFIAR CON ETIQUETA

CANTIDAD DE MUESTRA : 01 UNIDAD x 10 microlitros

MUESTRA DIRIMIENTE : NINGUNA ( A SOLICITUD DEL CLIENTE)

ANALISIS	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
Detección de aceite esencial	Se adjunta	AOAC Official Method 971.12 Nonvanillin Vanilla Volatiles in Vanilla Extract. Direct Gas Chromatographic Method (2000) Cp. 36 Pg. 10

LIMA, 09 DE JUNIO DEL 2006

  
QUIM CLOTH DE HUAPAYA  
JEFE DIVISION TECNICA  
C.Q.P N° 296



- PAG. 1 DE 1.

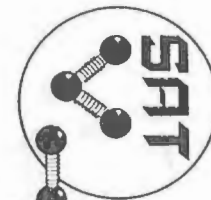
INFORME DE ENSAYO EMITIDO EN BASE A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO LABORATORIO  
VALIDO POR 30 DIAS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA PROPORCIONADA  
QUEDA ABSOLUTAMENTE PROHIBIDA TODA REPRODUCCION PARCIAL DEL PRESENTE  
INFORME SIN LA AUTORIZACION PREVIA Y EXPRESA DE SAT S.A.C.



ca total : 3083550720

### Cromatograma del Analisis para Aceites Esenciales

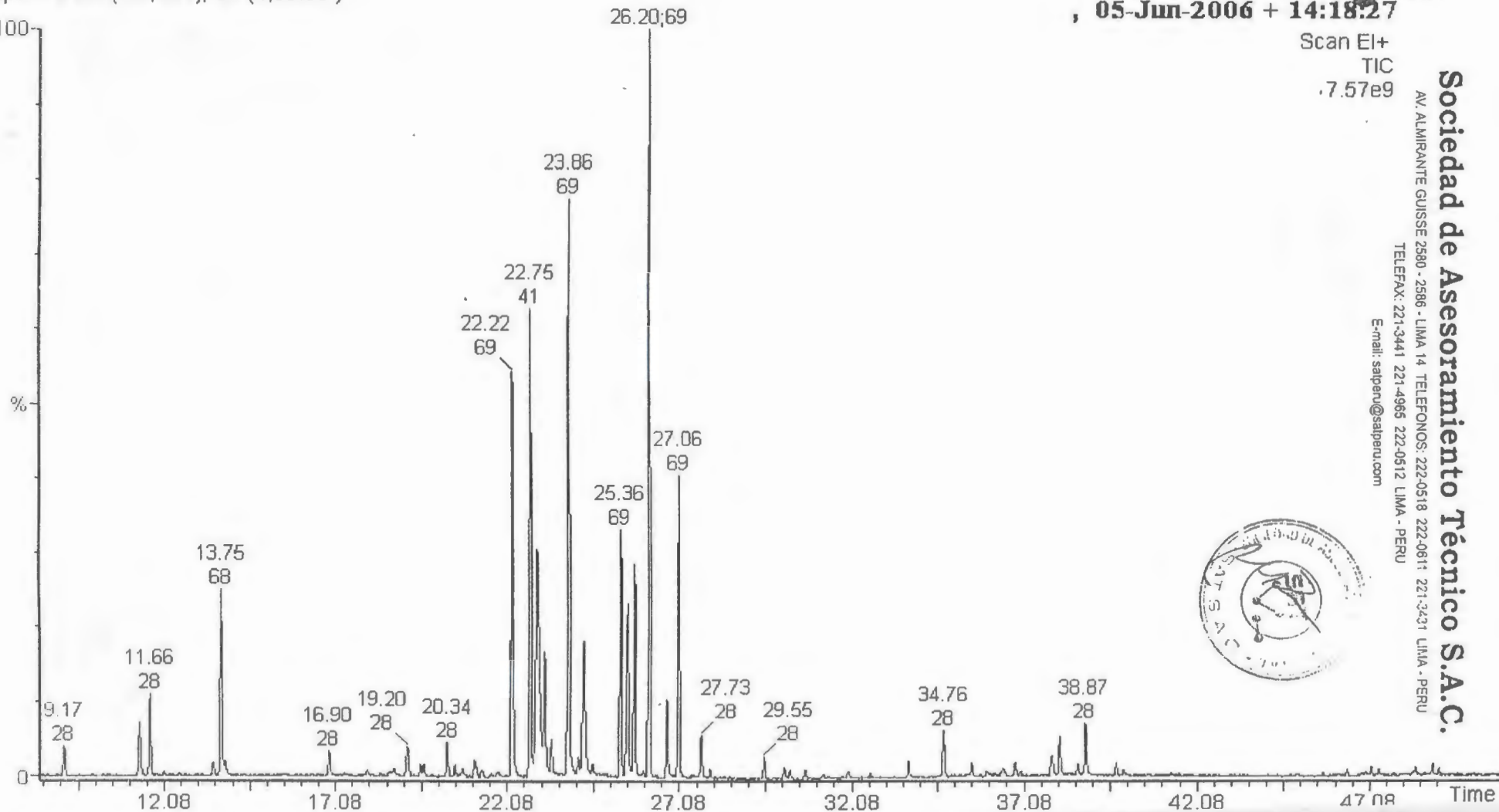
Codigo de la Muestra - T8 - 0 - SF



, 05-Jun-2006 + 14:18:27

Scan EI+  
TIC  
.7.57e9

Mpdt-16 Sm (SG, 4x1); Sb (5,50.00)



**Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.**

AV. ALMIRANTE GUISE 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0811 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: [satperu@satperu.com](mailto:satperu@satperu.com)



# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU  
TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

## Relacion de Aceites Esenciales Codigo de la Muestra T8 - O - SF

### Analisis Realizado por Espectrometria de MASAS

Date Acquisition Time : 05 / 06 / 06  
14 : 18 : 27 p.m.  
Chanel : A  
Operator : Manager  
Dilution Factor : 1.000000

- 1.- Alfa Thujene ( t = 8.74 )
- 2.- Alfa Pinene ( t = 9.17 )
- 3.- 2 - Beta Pinene ( t = 11.34 )
- 4.- Beta Myrcene ( t = 11.69 )
- 5.- Pseudolimonene ( t = 12.54 )
- 6.- Delta 3 - Carene ( t = 12.83 )
- 7.- O - Cymene ( t = 13.54 )
- 8.- L - Limonene ( t = 13.78 )
- 9.- Beta - Phellandrene ( t = 13.87 )
- 10.- Beta Ocymene ( t = 14.45 )
- 11.- Gamma terpinene ( t = 15.07 )
- 12.- Alfa - Terpinolene ( t = 16.39 )
- 13.- P - Cymenyl ( t = 16.56 )
- 14.- Linalool ( t = 16.92 )
- 15.- Pinane 2,10 Epoxy ( t = 17.34 )
- 16.- P - Mentha - Trans - 2,8 - Dien - 1 - ol ( t = 18.03 )
- 17.- P - Mentha - 2 - EN - 1 - ol ( t = 18.16 )
- 18.- 1,1' - Bicyclopropyl, 2,2,2',2' - tetramethyl ( t = 18.45 )
- 19.- Cyclohexanol, 2 - Methylene - 5 - ( 1 - Methylenehenyl ) ( t = 18.66 )
- 20.- 1,6 Octadiene, 2,5 - Dimethyl -, ( E ) ( t = 18.81 )
- 21.- 2 - Cyclohexen - 1 - one, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylenehenyl ) ( t = 18.91 )
- 22.- Citronella ( t = 19.20 )
- 23.- Cis - Verbenol ( t = 19.57 )
- 24.- Isopulegol ( t = 19.66 )
- 25.- Methyl 2 - Octenoate ( t = 19.89 )
- 26.- P - Mentha - 1,5 - Dien - 8 - ol ( t = 20.13 )
- 27.- 3 - Cyclohexene 1 - Carboxaldehyde, 2,4,6 Trimethyl ( t = 20.36 )
- 28.- 4 - Terpineol ( t = 20.59 )
- 29.- P - Cymene - 8 - ol ( t = 20.80 )
- 30.- Linalyl Propionate ( t = 21.14 )
- 31.- Cis - carveol ( t = 21.36 )
- 32.- 2 - Cyclohexen - 1 - ol, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylenehenyl )-, Cis ( t = 21.63 )
- 33.- 2,6 Octadien - 1 - ol, 3,7 Dimethyl, ( Z ) ( t = 22.26 )
- 34.- Z - Citral ( t = 22.75 )
- 35.- Neral dimethyl Acetal ( t = 23.00 )
- 36.- Trans Geraniol ( t = 23.16 )
- 37.- 6 - Octenoic acid, 3,7 - Dimethyl ( t = 23.38 )
- 38.- E - Citral ( t = 23.87 )
- 39.- 2,6 Octadienoic Acid, 3,7 - Dimethyl - Methyl Ester, ( E ) ( t = 24.15 )
- 40.- 6 - Carboethoxy - 3 - Methyl - 1 - ( 5 - oxo - 3,4 - Dihydro - 2H - Pyrrolyl )  
2 - ciclohexene ( t = 24.33 )
- 41.- Epoxi - Cis - Linalooloxide ( t = 24.57 )
- 42.- Geranyl Tiglate ( t = 24.95 )
- 43.- Geranial Dimethyl Acetal ( t = 25.40 )
- 44.- 6 - ( 3 - Methyl - 3 - cyclohexenyl ) - 2 - Methyl - 2,6 - Heptadienol ( t = 25.60 )
- 45.- Methyl Geranate ( t = 25.77 )





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

- 46.- E - Beta - Terpinyl Acetate ( t = 26.02 )
- 47.- Gamma Dodecalactone ( t = 26.20 )
- 48.- Citronellyl Acetate ( t = 26.73 )
- 49.- Neryl Acetate ( t = 27.12 )
- 50.- Geraniol Acetate ( t = 27.75 )
- 51.- Alfa Cubebene ( t = 28.00 )
- 52.- Beta Elemene ( t = 28.40 )
- 53.- Methyl Eugenol ( t = 28.53 )
- 54.- T - Caryophyllene ( t = 29.57 )
- 55.- Germacrene D ( t = 29.84 )
- 56.- Geranyl Acetone ( t = 30.13 )
- 57.- Beta Farnesene ( t = 30.29 )
- 58.- Alfa Humulene ( t = 30.76 )
- 59.- Aromadendrene ( t = 30.89 )
- 60.- Bergamotene ( t = 31.25 )
- 61.- Alfa Amorphene ( t = 31.41 )
- 62.- 1,6 Cyclodecadiene, 1 - Methylene - 8 - ( 1 - Methylene ) - , [S - ( E,E ) ] ( t = 31.54 )
- 63.- Valencene 2 ( t = 31.84 )
- 64.- Farnesene ( t = 31.95 )
- 65.- Beta Bisabolene ( t = 32.17 )
- 66.- Gamma Cadinene ( t = 32.50 )
- 67.- Delta Cadinene ( t = 32.60 )
- 68.- 1S, Cis - Calamenene ( t = 32.72 )
- 69.- Alfa Muurolene ( t = 33.18 )
- 70.- D - Nerolidol ( t = 33.75 )
- 71.- Spathulenol ( t = 34.58 )
- 72.- Caryophyllene oxide ( t = 34.76 )
- 73.- Alfa Ylangene ( t = 34.99 )
- 74.- Cis - Alfa - Bisabolene ( t = 35.23 )
- 75.- Ledol ( t = 35.45 )
- 76.- Humulene oxide ( t = 35.59 )
- 77.- Cubenol ( t = 36.01 )
- 78.- Epsilon Cadinene ( t = 36.23 )
- 79.- Tau Muurolol ( t = 36.46 )
- 80.- Alfa Cadinol ( t = 36.81 )
- 81.- Selinen - 11 - EN - 4 - OL ( t = 36.97 )
- 82.- Bicyclo[5,1,0]Octan - 2 - one, 4,6 - Diisopropylidene - 8,8 - Dimethyl ( t = 37.88 )
- 83.- Farnesal ( Z,Z ) ( t = 38.12 )
- 84.- Widdrene ( t = 38.66 )
- 85.- Farnesal ( E,E ) ( t = 38.87 )
- 86.- Isocaryophyllen ( t = 39.75 )
- 87.- Methyl Farnesate ( t = 39.95 )
- 88.- Cis - Alfa - Bisabolene ( t = 40.67 )
- 89.- Farnesyl Acetate ( t = 41.33 )
- 90.- Bicyclo[3,1,0]Hexan - 2 - One, 4 - Methyl - 1 - ( 1 - Methylene ) - , ( 1alfa, 4Beta, 5 alfa ) ( t = 44.96 )
- 91.- 3 - ( 1' - Isopropyl - 2',2' - Dimethylcyclopentyl ) - 1 - propanol ( t = 45.72 )
- 92.- RAC - 1,2,4 - Trimethyl - 3 - Nitrobicyclo[3.3.1] Nonan - 9 - one ( t = 46.30 )
- 93.- 1 - Methylene - 2B - Hydroxymethyl - 3,3 - dimethyl - 4B - ( 3 - Methylbutyl - 2 - enyl )  
cyclohexane ( t = 46.95 )
- 94.- Cyclopropanecarboxaldehyde, 2 - Methyl - 2 - ( 4 - Methyl - 3 - Pentenyl ) - trans ( t = 48.91 )

Nota : t = Tiempo de retencion en min.





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU  
TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU  
E-mail: satperu@satperu.com

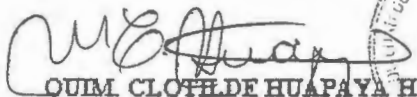
## INFORME DE ENSAYO N° 4823-2006

PRODUCTO : ACEBITE ESENCIAL  
SOLICITADO POR : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO  
DIRECCION : CAMILO CARRILLO No. 325 - JESUS MARIA - LIMA  
FECHA DE RECEPCION : 01-06-06 (MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE)  
FECHA DE ANALISIS : 01-06-06  
SOLICITUD N° : 1160-2006

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: T2  
L-CF  
ESTADO / CONDICION : PRODUCTO LIQUIDO / TEMPERATURA AMBIENTE  
PRESENTACION : TUBO DE VIDRIO COLOR AMBAR CON TAPA DE  
POLIETILENO SIN LITOGRAFIAR CON ETIQUETA  
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 UNIDAD x 10 microlitros  
MUESTRA DIRIMIENTE : NINGUNA ( A SOLICITUD DEL CLIENTE)

ANALISIS	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
Detección de aceite esencial	Se adjunta	AOAC Official Method 971.12 Nonvanillin Vanilla Volatiles in Vanilla Extract. Direct Gas Chromatographic Method (2000) Cap. 36 Pag. 10

LIMA, 09 DE JUNIO DEL 2006

  
QUIM CLOCHE HUAPAYA H.  
JEFE DIVISION TECNICA  
C.Q.P N° 296



- PAG. 1 DE 1.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO EN BASE A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO LABORATORIO  
VALIDO POR 90 DIAS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA PROPORCIONADA  
QUEDA ABSOLUTAMENTE PROHIBIDA TODA REPRODUCCION PARCIAL DEL PRESENTE  
INFORME SIN LA AUTORIZACION PREVIA Y EXPRESA DE SAT S.A.C.

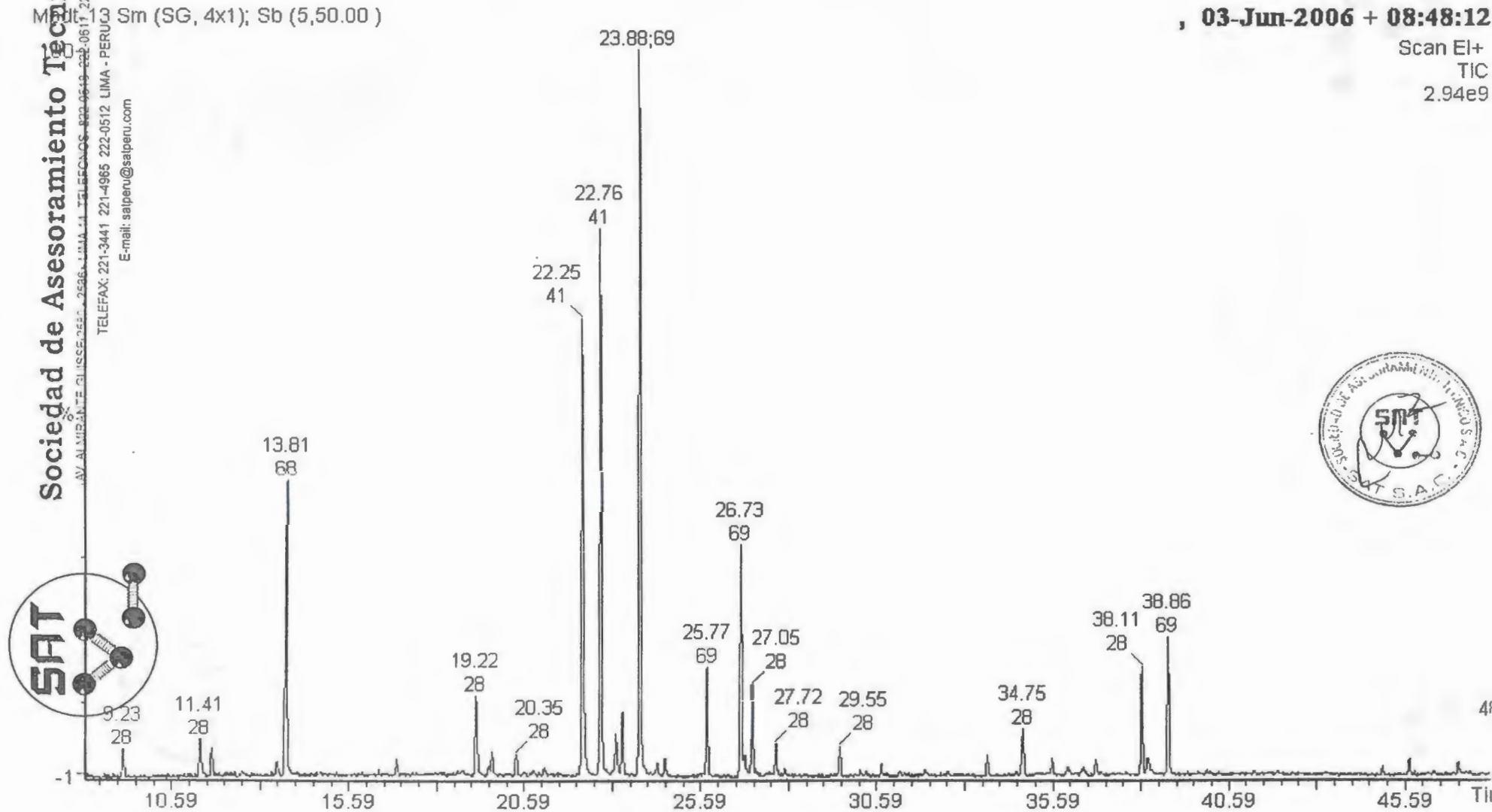
LE

Codigo de la Muestra - T2 - L - CF

Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.  
AV. ALMIRANTE DE USSE 2596, LIMA 11. TELEFAX: 222-0611, 221-3431 LIMA - PERU  
TELEFAX: 221-3441 221-4985 222-0512 LIMA - PERU  
E-mail: satperu@satperu.com

, 03-Jun-2006 + 08:48:12

Scan EI+  
TIC  
2.94e9







## Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

- 46.- Alfa Cadinol (t = 36.80)
- 47.- Selinen - 11 - EN - 4 - OL (t = 36.95)
- 48.- Farnesal (Z,Z) (t = 38.11)
- 49.- Farnesyl Alcohol (t = 38.31)
- 50.- Farnesal (E,E) (t = 38.85)
- 51.- Methyl Farnesate (t = 39.94)
- 52.- Farnesyl Acetate (t = 41.33)
- 53.- Byciclo[3,1,0]Hexan - 2 - One, 4 - Methyl - 1 - ( 1 -Methylethyl ) - , ( 1alfa, 4Beta, 5 alfa ) (t = 44.94)
- 54.- 3 - ( 1' - Isopropyl -2',2' - Dimethylcyclopentyl ) - 1 - propanol (t = 45.72)
- 55.- 5 - Acetoximethyl - 2,6,10 - Trimethyl - 2,9 - undecadien - 6 - ol (t = 46.39)
- 56.- 1 - Methylene - 2B - Hydroxymethyl - 3,3 - dimethyl - 4B - (3 - Methylbutyl - 2 - enyl) cyclohexane (t = 46.95)
- 57.- [ ( 1RS,2RS ) - 2 - Methyl - 2 - ( 4' - Methyl - 3 - Pentenyl ) cyclopropane ] carbaldehyde (t = 47.08)
- 58.- 1,3,3 - trimethyl - 2 - hydroxymethyl - 3,3 - dimethyl - 4 - ( 3 - Methylbut - 2 - enyl ) - ciclohexene (t = 47.86)
- 59.- Citmellyl Butenoate (t = 48.37)
- 60.- Cyclopropanecarboxaldehyde - 2 - Methyl - 2 - 4 ( 4 - Methyl - 3 - Pentenyl ) trans (t = 48.89)
- 61.- ( Z ) - 4 - ( 1,5,9 - Trimethyl 4,8 - decadienyl ) 3 - ciclohexen - 1 - one (t = 49.06)
- 62.- 2 - isopropenyl - 5 - Methylhex - 4 - enal (t = 50.10)
- 63.- 10,11 dihydro - 2 - cis - 6, trans - farnesol (t = 52.18)

Nota : t = Tiempo de retencion en min.





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISE 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

## INFORME DE ENSAYO N° 4825-2006

PRODUCTO : ACEITE ESENCIAL  
SOLICITADO POR : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO  
DIRECCION : CAMILO CARRILLO No. 325 - JESUS MARIA - LIMA  
FECHA DE RECEPCION : 01-06-06 (MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE)  
FECHA DE ANALISIS : 01-06-06  
SOLICITUD N° : 1160-2006

---

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: T6  
L-SF

ESTADO / CONDICION : PRODUCTO LIQUIDO / TEMPERATURA AMBIENTE

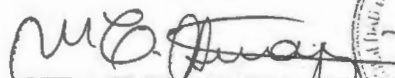
PRESENTACION : TUBO DE VIDRIO COLOR AMBAR CON TAPA DE  
POLIETILENO SIN LITOGRAFIAR CON ETIQUETA

CANTIDAD DE MUESTRA : 01 UNIDAD x 10 microlitros

MUESTRA DIRIMENTE : NINGUNA ( A SOLICITUD DEL CLIENTE)

ANALISIS	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
Detección de aceite esencial	Se adjunta	AOAC Official Method 971.12 Nonvanillin Vanilla Volatiles in Vanilla Extract. Direct Gas Chromatographic Method (2000) Cp. 36 Pg.10

LIMA, 09 DE JUNIO DEL 2006

  
QUIM CLOTILDE HUAHAYA H.  
JEFE DIVISION TECNICA  
C.O.P N° 296



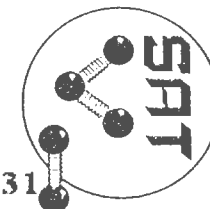
- PAG. 1 DE 1 -  
INFORME DE ENSAYO EMITIDO EN BASE A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO LABORATORIO  
VALIDO POR 90 DIAS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA PROPORCIONADA  
QUEDA ABSOLUTAMENTE PROHIBIDA TODA REPRODUCCION PARCIAL DEL PRESENTE  
INFORME SIN LA AUTORIZACION PREVIA Y EXPRESA DE SAT S.A.C.

/LE



Cromatograma del Analisis para Aceites Esenciales

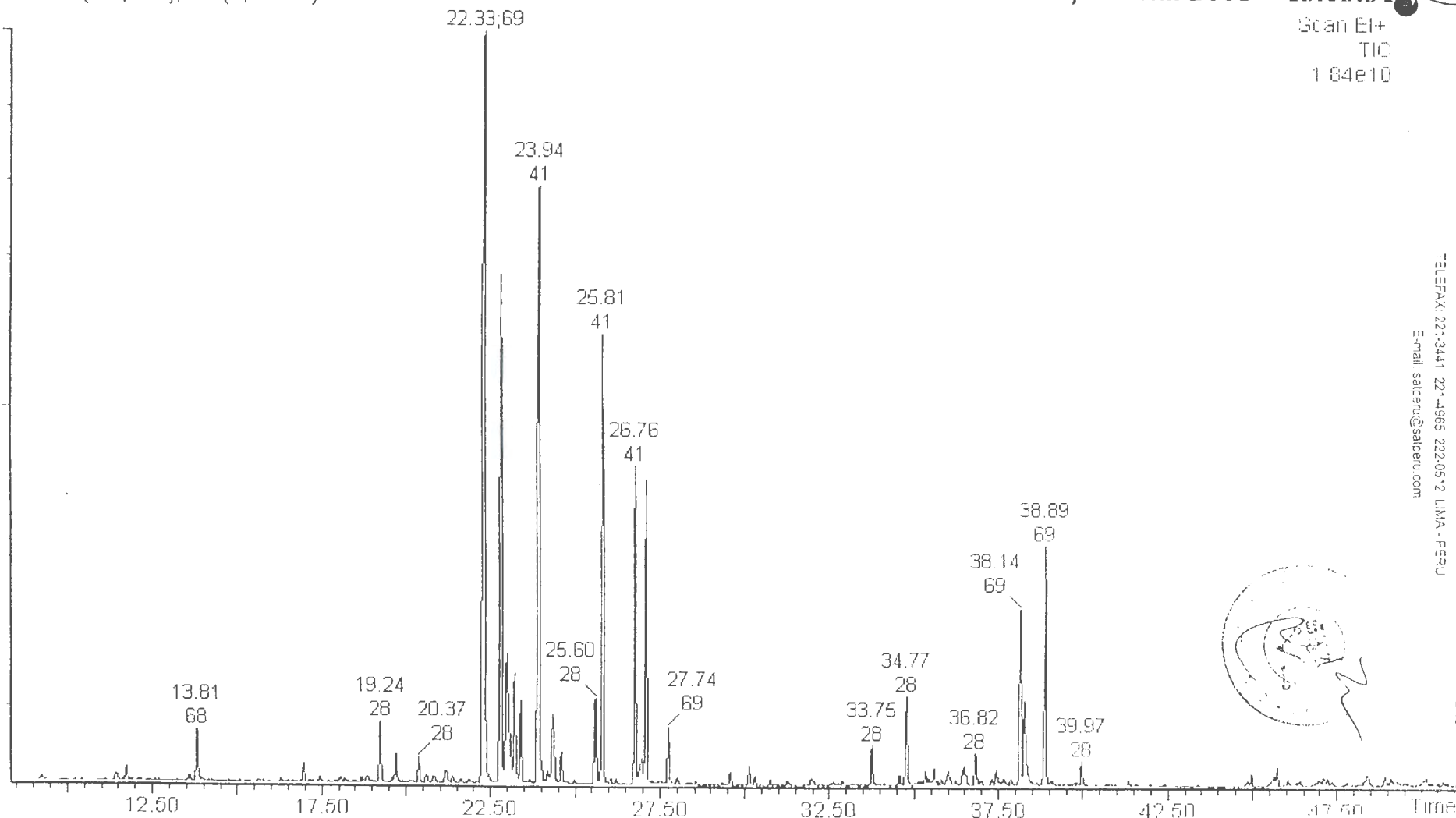
Codigo de la Muestra - T6 - L - SF



, 05-Jun-2006 + 13:03:31

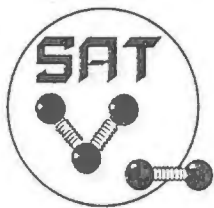
Scan EI+  
TIC  
1.84e10

IL-15 Sm (SG, 4x1); Sb (5,50.00 )



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.  
AV ALMIRANTE GUISSE 2565 - 2906 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0519 222-0677 222-5431 FAX: 222-0677  
TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU  
E-mail: satperu@satperu.com





# Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2580 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@satperu.com

## Relacion de Aceites Esenciales Codigo de la Muestra T6 - L - SF

### Analisis Realizado por Espectrometria de MASAS

Date Acquisition Time : 05 / 06 / 06  
13 : 03 : 31 p.m.

Chanel : A  
Operator : Manager  
Dilution Factor : 1.000000

- 1.- Alfa Pinene ( t = 9.20 )
- 2.- 1,6 - Octadien - 3 ol - 3,7 - Dimethyl - 2 - Amino Benzoate ( t = 11.44 )
- 3.- Beta Myrcene ( t = 11.72 )
- 4.- 2,3 - Dehydro - 1,8 - Cineole ( t = 11.90 )
- 5.- Pseudolimonene ( t = 12.59 )
- 6.- O - Cymene ( t = 13.54 )
- 7.- L - Limonene ( t = 13.81 )
- 8.- Beta - Phellandrene ( t = 13.91 )
- 9.- 2,6 Octadiene 2,7 - Dimethyl ( t = 14.80 )
- 10.- Trans - Linalool Oxide ( t = 15.73 )
- 11.- Linalool Oxide ( t = 16.47 )
- 12.- P - Cymenyl ( t = 16.63 )
- 13.- Linalool ( t = 16.95 )
- 14.- 2 - Isopropenyl - 5 - Methylhex - 4 - enal ( t = 17.40 )
- 15.- Trans Rose Oxide ( t = 17.46 )
- 16.- P - Mentha - Trans - 2,8 - Dien - 1 - ol ( t = 18.05 )
- 17.- Alfa - Pinene Oxide ( t = 18.18 )
- 18.- Alfa Campholene Aldehyde ( t = 18.25 )
- 19.- Cis - P - Mentha - 2,8 - dien - 1 - ol ( t = 18.68 )
- 20.- 1,6 Octadiene, 2,5 - Dimethyl -, ( E ) ( t = 18.85 )
- 21.- 2 - Cyclohexen - 1 - one, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylethenyl ) ( t = 18.92 )
- 22.- Citronella ( t = 19.24 )
- 23.- Cis - Verbenol ( t = 19.61 )
- 24.- Isopulegol ( t = 19.69 )
- 25.- Methyl 2 - Octenoate ( t = 19.92 )
- 26.- P - Mentha - 1,5 - Dien - 8 - ol ( t = 20.13 )
- 27.- 3 - Cyclohexene 1 - Carboxaldehyde, 2,4,6 Trimethyl ( t = 20.37 )
- 28.- 4 - Terpineol ( t = 20.60 )
- 29.- P - Cymene - 8 - ol ( t = 20.83 )
- 30.- Linalyl Propionate ( t = 21.17 )
- 31.- P - Mentha - 1,5 - dien - 8 - ol ( t = 21.22 )
- 32.- Cis - carveol ( t = 21.39 )
- 33.- 2 - Cyclohexen - 1 - ol, 2 - Methyl - 5 - ( 1 - Methylethenyl )-, Cis ( t = 21.63 )
- 34.- Photonerol A ( t = 21.87 )
- 35.- Beta Citronellol ( t = 22.33 )
- 36.- Z - Citral ( t = 22.82 )
- 37.- Neral dimethyl Acetal ( t = 22.92 )
- 38.- Trans - Geraniol ( t = 23.21 )
- 39.- 6 - Octenoic acid, 3,7 - Dimethyl ( t = 23.39 )
- 40.- E - Citral ( t = 23.94 )
- 41.- 2,6 Octadienoic Acid, 3,7 - Dimethyl - Methyl Ester, ( E ) ( t = 24.18 )
- 42.- 6 - Carboethoxy - 3 - Methyl - 1 - ( 5 - oxo - 3,4 - Dihydro - 2H - Pyrrolyl )  
2 - ciclohexene ( t = 24.32 )
- 43.- Epoxi - Cis - Linalooloxide ( t = 24.59 )
- 44.- Geranyl Tiglate ( t = 24.95 )
- 45.- 6 - ( 3 - Methyl - 3 - cyclohexenyl ) - 2 - Methyl - 2,6 - Heptadienol ( t = 25.60 )





## Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

AV. ALMIRANTE GUISSÉ 2520 - 2586 - LIMA 14 TELEFONOS: 222-0518 222-0611 221-3431 LIMA - PERU

TELEFAX: 221-3441 221-4965 222-0512 LIMA - PERU

E-mail: satperu@saiperu.com

- 46.- Methyl Geranate (t = 25.81)
- 47.- E - Beta - Terpinyl Acetate (t = 26.05)
- 48.- Gamma Dodecalactone (t = 26.21)
- 49.- Citronellyl Acetate (t = 26.75)
- 50.- Acid Geranic (t = 26.96)
- 51.- Neryl Acetate (t = 27.08)
- 52.- 3 - ( 2 - Hydroxy - 2 - Methyl - Propyl ) - Cyclohex - 2 - Enone (t = 27.50)
- 53.- Geraniol Acetate (t = 27.74)
- 54.- Alfa Cubebene (t = 28.00)
- 55.- Beta Elemene (t = 28.40)
- 56.- Methyl Eugenol (t = 28.54)
- 57.- Dehydroaromadendrene (t = 29.01)
- 58.- Ethyl Geranate (t = 29.30)
- 59.- T - Caryophyllene (t = 29.56)
- 60.- Germacrene D (t = 29.85)
- 61.- Geranyl Acetone (t = 30.13)
- 62.- Aristolene (t = 30.17)
- 63.- Beta Farnesene (t = 30.30)
- 64.- Alfa Humulene (t = 30.74)
- 65.- Aromadendrene (t = 30.89)
- 66.- Citronellyl Propionate (t = 31.10)
- 67.- Bergamotene (t = 31.26)
- 68.- Alfa Amorphene (31.41)
- 69.- Valencene 2 (t = 31.87)
- 70.- Farnesene (t = 31.97)
- 71.- Beta Bisabolene (t = 32.17)
- 72.- Gamma Cadinene (t = 32.50)
- 73.- Delta Cadinene (t = 32.61)
- 74.- 1S, Cis - Calamenene (t = 32.74)
- 75.- D - Nerolidol (t = 33.75)
- 76.- Spathulenol (t = 34.56)
- 77.- Caryophyllene oxide (t = 34.77)
- 78.- Veridiflorol (t = 35.14)
- 79.- Ledol (t = 35.42)
- 80.- Humulene oxide (t = 35.59)
- 81.- 2,7 Nonadienoic Acid , 3,8 - Dimethyl , Methyl Ester (t = 35.80)
- 82.- Cubenol (t = 36.01)
- 83.- Epsilon Cadinene (t = 36.24)
- 84.- Tau Cadinol (t = 36.41)
- 85.- Tau Muuroiol (t = 36.47)
- 86.- Torreyol (t = 36.54)
- 87.- Alfa Cadinol (t = 36.82)
- 88.- Selinen - 11 - EN - 4 - OL (t = 36.97)
- 89.- 6,10 - Dodecadien - 1 - ol , 3,7,11 - Trimethyl (t = 37.44)
- 90.- Cis - Alfa - Copaene - 8 - ol (t = 37.87)
- 91.- Bicyclo[5,1,0]Octan - 2 - one, 4,6 - Diisopropylidene - 8,8 - Dimethyl (t = 37.88)
- 92.- Farnesal (Z,Z) (t = 38.13)
- 93.- Farnesol 3 (t = 38.27)
- 94.- Farnesal (E,E) (t = 38.89)
- 95.- Methyl Farnesate (t = 39.96)
- 96.- Farnesyl Acetate (t = 41.34)
- 97.- Bicyclo[3,1,0]Hexan - 2 - One, 4 - Methyl - 1 - ( 1 -Methylethyl ) - , ( 1alfa, 4Beta, 5 alfa ) (t = 44.97)
- 98.- 3 - ( 1' - Isopropyl -2',2' - Dimethylcyclopentyl ) - 1 - propanol (t = 45.73)
- 99.- RAC - 1,2,4 - Trimethyl - 3 - Nitrobicyclo[3.3.1]Nonan - 9 - one (t = 46.30)

Nota : t = Tiempo de retencion en min.



## *ANEXO 10*

**FOTOGRAFÍA DEL EQUIPO EMPLEADO PARA LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE “LANCHE”**



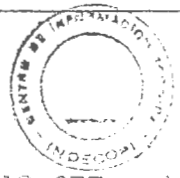
## *ANEXO 11*

**NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE DENSIDAD RELATIVA**

INSTITUTO DE INVESTIGACION TECNOLOGICA INDUSTRIAL Y DE NORMAS TECNICAS (ITINTEC) LIMA PERU

PERU	<u>ACEITES ESENCIALES</u>	ITINTEC 319.031
NORMA TECNICA	Determinación de la Densidad y de la Densidad Relativa	Diciembre, 1974

NACIONAL



NORMAS A CONSULTAR

- ITINTEC 319.077 Aceites Esenciales. Preparación de la Muestra para Análisis
- ITINTEC 319.079 Aceites Esenciales. Extracción de Muestras

1.- OBJETO

1.1 La presente Norma establece el método para determinar la densidad y la densidad relativa de los aceites esenciales, líquidos a la temperatura de 20°C.

2.- DEFINICIONES Y CLASIFICACION

2.1 Densidad a 20°C de un aceite esencial.- Es la relación entre el peso (masa) de un volumen dado de aceite esencial y su volumen, determinados a 20°C.

2.1.1 Esta cantidad se expresa en gramos por mililitro y su símbolo es  $\rho_{20}$ .

2.2 Densidad relativa a 20°C ó a 4°C de un aceite esencial.- Es la relación entre la densidad del aceite a 20°C y la del agua destilada a 20°C ó a 4°C.

2.2.1 Esta cantidad no tiene dimensión y su símbolo es  $d_{20}^{20}$  ó  $d_4^{20}$ .

2.2.2 Todas las pesadas se hacen en aire.

20 DIC. 1975

3.- METODOS DE ENSAYO

3.1 Principio del método

3.1.1 Esta Norma requiere de valores con una precisión de tres cifras decimales; Se usa un picnómetro para pesar volúmenes iguales del líquido en ensayo, con el objeto de obviar el uso de grandes cantidades de éste.

3.2 Aparatos

3.2.1 Balanza analítica, con una precisión de 0,5 mg

- 3.2.2 Baño de agua, mantenido a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$
- 3.2.3 Embudos y sifones para picnómetros
- 3.2.4 Picnómetro de 50 ml, 25 ml ó 10 ml de capacidad, de acuerdo al volumen de aceite esencial disponible.
- 3.2.5 Termómetro normalizado, dividido en quintos o décimos de grados Celsius para determinaciones de temperatura entre  $10^{\circ}\text{C}$  y  $30^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3 Procedimiento

- 3.3.1 La preparación de la muestra para el análisis se efectúa según la Norma ITINTEC 319.077.
- 3.3.2 Se lava cuidadosamente el picnómetro, se escurre, se enjuaga sucesivamente con etanol y éter diétilico y se seca el interior por medio de una corriente de aire seco.
  - 3.3.2.1 Se seca la parte externa del picnómetro con una tela seca ó un papel de filtro y se inserta el tapón.
  - 3.3.2.2 Se coloca el picnómetro en la balanza y se le deja durante 30 minutos, luego se pesa.
- 3.3.3 Se llena el picnómetro con agua destilada a aproximadamente  $20^{\circ}\text{C}$  y recientemente hervida, teniendo cuidado de evitar la presencia de burbujas de aire.
  - 3.3.3.1 Se coloca el picnómetro en un baño de agua a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Se comprueba la temperatura del baño de agua por medio del termómetro normalizado y se enrasa con agua destilada hasta la marca.
  - 3.3.3.2 Se inserta el tapón al picnómetro y se seca la parte exterior con una tela seca o un papel de filtro.
  - 3.3.3.3 Se coloca el picnómetro en la balanza, y se deja durante 30 minutos, luego se pesa con el contenido ( $P_1$ ).
- 3.3.4 Se vacía el picnómetro, se lava con etanol y después con éter diétilico y se seca por medio de una corriente de aire seco.
- 3.3.5 Se llena el picnómetro con el aceite esencial, que debe estar a aproximadamente  $20^{\circ}\text{C}$ , evitando la presencia de burbujas de aire.
  - 3.3.5.1 Se vuelve a colocar el picnómetro en el baño de agua a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  y se le deja durante 30 minutos. Se enrasa con aceite esencial hasta la marca y se procede como en 3.3.3.2 y 3.3.3.3 obteniéndose un peso ( $P_2$ )

### 3.4 Expresión de resultados

3.4.1 Sea:

P el peso, en gramos, del picnómetro vacío

P<sub>1</sub> el peso, en gramos, del picnómetro lleno con agua destilada a 20°C

P<sub>2</sub> el peso, en gramos, del picnómetro lleno con aceite esencial a 20°C

3.4.2 La densidad  $\rho_{20}$ , en gramos por mililitro, se da por la siguiente fórmula:

$$0,99718 \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

3.4.3 La densidad relativa  $d_{20}^{20}$  se da por la fórmula siguiente:

$$\frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

3.4.4 La densidad relativa  $d_4^{20}$  se da por la fórmula siguiente:

$$0,99823 \times d_{20}^{20}$$

### 3.5 Precisión de los resultados

La densidad  $\rho_{20}$ , la densidad relativa  $d_{20}^{20}$  y la densidad relativa  $d_4^{20}$  de un aceite esencial se expresan con una precisión de por lo menos tres cifras decimales.



## *ANEXO 12*

### **NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN**



## 1. OBJETO

1.1 La presente Norma establece el método para determinar el índice de refracción de los aceites esenciales.

## 2. DEFINICIONES Y CLASIFICACION

2.1 Índice de refracción de un aceite esencial.- Es la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al aceite esencial mantenido a una temperatura constante.

## 3. METODO DE ENSAYO

### 3.1 Principio del método.

3.1.1 Consiste en la medición del ángulo de refracción del aceite esencial mantenido en condiciones de transparencia e isotropismo siendo la longitud de onda de la luz de 589,3 nm (\*), que corresponde a la línea D del sodio y siendo la temperatura de 20°C. (Nota 1).

Nota 1.- Cuando el aceite esencial no se encuentra al estado sólido a 20°C ó de 30°C, según el valor presumido de su punto de fusión.

### 3.2 Aparatos

3.2.1 Refractómetro clásico que permite la lectura directa de los índices de refracción comprendidos entre 1,3000 y 1,7000 con precisión de  $\pm 0,0002$  y calibrado de manera a obtener, a la temperatura de 20°C, los siguientes índices de refracción. (Nota 2).

Nota 2.- Ciertos aparatos se pueden graduar por medio de una lámina de vidrio de índice de refracción conocido de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

- 1,3330 para el agua destilada
- 1,5011 para el benceno de uso crioscópico
- 1,6585 para el bromo - naftaleno

(\*) Conocido también como milimirón.

3.2.2 Dispositivo regulador de la temperatura, que mantiene el aparato en una temperatura constante a  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ .

3.2.3 Fuente luminosa.- Luz de sodio (longitud de onda 589,3 nm) o, si el refractómetro está provisto de un dispositivo óptico compensador, luz difusa de día o de una lámpara eléctrica.

3.3 Procedimiento.

3.3.1 Preparación de la muestra destinada al laboratorio.

Se efectúa de acuerdo a la Norma correspondiente.

3.3.2 Determinación.-

3.3.2.1 Se verifica que la temperatura a la cual se efectúan las mediciones, no difiera más de  $2^{\circ}\text{C}$  de la temperatura de referencia y que se mantenga constante a  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  durante la operación.

3.3.2.2 Se lleva el aceite esencial a una temperatura aproximadamente igual a aquella en que se debe hacer la medición y se coloca en el dispositivo del aparato.

3.3.2.3 Se espera a que la temperatura se estabilice y se efectúa entonces la lectura

3.3.3 Expresión de resultados.

3.3.3.1 Sea  $n_D^{t'}$  el valor de la lectura a la temperatura  $t'$ , el índice de refracción  $n_D^t$  a la temperatura de referencia  $t$ , es dado por la siguiente fórmula.

$$n_D^t = n_D^{t'} + a (t' - t)$$

3.3.3.2 En general y salvo indicaciones contrarias, se menciona  $a = 0,0004$ .

3.3.3.3 El índice de refracción del aceite esencial se expresa por un número con cuatro decimales.

3.3.4 Informe

3.3.4.1 El informe debe, además de los resultados, mencionar todas las condiciones del ensayo, los detalles del procedimiento no previstos en la Norma o facultativos, así como todos los incidentes que puedan influir en los resultados.

\*\*\*\*\*

## *ANEXO 13*

**NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN  
ETANOL**

PERU	<u>ACEITES ESENCIALES</u>	ITINTEC
NORMA TÉCNICA	Determinación de la Solubilidad en Etanol	319.084
		Diciembre, 1974

NACIONAL

NORMAS A CONSULTAR



- ITINTEC 319.075 Aceites Esenciales. Determinación del Índice de Refracción
- ITINTEC 319.077 Aceites Esenciales. Preparación de la Muestra para Análisis
- ITINTEC 319.079 Aceites Esenciales. Extracción de Muestras.

1.- OBJETO

- 1.1 La presente Norma establece el método de determinación de la solubilidad de aceites esenciales en diluciones de etanol.

2.- DEFINICIONES Y CLASIFICACION

- 2.1 Aceite esencial soluble en V o más volúmenes de etanol de graduación dada t. - Es aquel cuya solución clara en V volúmenes de etanol de graduación dada t, permanece igual después de la adición posterior de etanol de la misma concentración, hasta completar un total de 20 volúmenes del etanol empleado.
- 2.2 Aceite esencial soluble en V volúmenes de etanol en graduación dada t que se enturbia al diluir. - Es aquel cuya solución clara en V volúmenes de etanol de graduación dada t se enturbia y permanece así después de la adición gradual de etanol de la misma concentración hasta un total de 20 volúmenes del etanol empleado.
- 2.3 Aceite Esencial soluble en V volúmenes de etanol de graduación dada t, que se enturbia en V' volúmenes ( $V' < 20$ ). - Es aquel cuya solución clara en V volúmenes de etanol de graduación dada t se enturbia y permanece así después de la adición gradual de etanol de la misma concentración hasta un total de V' volúmenes del etanol empleado.

- 2.4 Aceite esencial soluble, con opalescencia.- Es aquel cuya solución alcohólica al ser diluida muestra una tonalidad azul, siendo este color similar al del patrón de opalescencia recientemente preparado de acuerdo con 4.4.2.

### 3.- EXTRACCION DE MUESTRAS Y RECEPCION

- 3.1 Se realizará de acuerdo a lo indicado en la Norma ITINTEC -- 319.079.

### 4.- METODOS DE ENSAYO

#### 4.1 Preparación de la muestra a ensayar

- 4.1.1 Se realiza de acuerdo a lo indicado en la Norma ITINTEC -- 319.077

#### 4.2 Principio del Método

- 4.2.1 A la temperatura de 20°C se adiciona progresivamente, al aceite esencial, una solución acuosa de etanol de concentración adecuada y conocida y se observa el grado de solubilidad.

#### 4.3 Aparatos

- 4.3.1 Bureta de 25 ml ó 50 ml, graduada al 0,1 ml
- 4.3.2 Probeta de 25 ml ó 30 ml de capacidad, con tapa esmerilada.
- 4.3.3 Baño de temperatura constante, que pueda ser mantenido a 20°C ± 0,2°C
- 4.3.4 Termómetro calibrado, graduado en quintos o décimos de grados Celsius, que permita la determinación de temperaturas entre 10°C y 30°C

#### 4.4 Reactivos

- 4.4.1 Soluciones diluidas de etanol.- Se usa normalmente soluciones de 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 y 95 % (V/V). Para preparar estas soluciones se debe usar el etanol más pu-

//.ro posible y según las directivas dadas en la Tabla. Se controla su concentración con un alcoholímetro, un densímetro o por medida del índice de refracción.

4.4.2 Solución patrón para opalescencia.- A 50 ml de una solución 0,0002 N de cloruro de sodio, se añade 0,5 ml de solución 0,1 N de nitrato de plata y una gota de ácido nítrico concentrado ( $d_{20} = 1,38$  g/ml). Se agita la solución y se deja en reposo por cinco minutos.

#### 4.5 Procedimiento

- 4.5.1 Se coloca dentro de una probeta (4.3.2) 1 ml de aceite esencial, medido con una pipeta, pesado con una exactitud de  $\pm 5$  mg \*.
- 4.5.2 Se coloca la probeta y su contenido en el baño de temperatura constante (4.3.3) mantenido a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .
- 4.5.3 Usando la bureta (4.3.1), se añade la solución diluida de etanol de concentración conocida (4.4.1) -el cual se debe haber llevado previamente a una temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ - en incrementos de 0,1 ml hasta que el aceite se disuelva completamente, agitando frecuente y vigorosamente durante la adición del solvente. Cuando la solución sea perfectamente clara, se anota el volumen de la solución de etanol (4.4.1) añadido.
- 4.5.4 Se continúa añadiendo el solvente en incrementos de 0,5 ml hasta llegar a 20 ml y se sigue agitando despues de cada adición. Si la solución se pone turbia u opalescente antes de haber agregado un volumen total de 20 ml de etanol, se anota el volumen en el momento en que aparece la turbidez u opalescencia, y eventualmente el volumen en el cual desaparece ( $V''$ )
- 4.5.5 Si no se obtiene una solución clara despues de añadir 20 ml de solvente, se repite el procedimiento con la siguiente concentración más alta de la solución de etanol dada en la Tabla.

---

\* Cuando el estado físico del aceite esencial no permite utilizar una pipeta, se pesa  $1\text{ g} \pm 0,005\text{ g}$  del mismo. En este caso los resultados se deben expresar en peso y volumen.

#### 4.6 Expresión de resultados

##### 4.6.1 Sí:

V es el volumen, en ml, de solución de etanol a la dilución t necesaria para obtener una solución clara;

V' es el volumen, en ml, de solución de etanol a la dilución t, que produce turbidez, seguida de claridad, si ello ocurre;

V'' es el volumen, en ml, de solución de etanol a la dilución t, en el cual desaparece la turbidez.

La solubilidad del aceite esencia en la solución diluída de etanol de concentración t será: el volumen en V volúmenes con turbidez entre V' y V'' volúmenes.

4.6.2 Exactitud de los resultados.- Se expresan los valores V, V' y V'' por números hasta con un decimal. Si la solución no es completamente clara sino sólo opalescente, se anota si la opalescencia es "mayor que", "igual a" ó "menor que" aquella de la solución patrón (4.4.2)

#### 4.7 Informe

4.7.1 El informe del ensayo debe mencionar, además de los resultados, el método empleado, el método de expresión de resultados, cualquier particularidad observada durante las determinaciones y cualquier detalle no señalado en esta Norma o considerada como opcional, pero que pueda haber afectado los resultados.



T A B L A

Diluciones de etanol en volumen y en peso

Diluciones: ml de etanol en 100 ml de la mezcla (%v/v) a $\pm$ 0,1%	Volumen de agua destilada a 20°C que debe ser aña- dido a 100 ml de etanol al 95% (v/v) a la misma temperatura con una tolerancia en- tre $\pm 0,5^\circ\text{C}$ , para la preparación de las diluciones corres- pondientes.  ml	Peso de Etanol 95 %  (v/v)	Peso del Agua a ser añadi- da	Límites de la Densidad Relativa y la densidad aparente		Índice de re- frac- ción a 20° C
				d <sub>20</sub> <sup>20</sup>	d <sub>4</sub> <sup>20</sup>	
50	95,8	46	54	0,9316 á 0,9320	0,9300 á 0,9304	1,3590
55	77,9	51,1	48,9	0,9214 á 0,9218	0,9198 á 0,9202	1,3598
60	62,9	56,4	43,6	0,9105 á 0,9110	0,9089 á 0,9094	1,3614
65	50,2	61,9	38,1	0,8990 á 0,8994	0,8974 á 0,8978	1,3625
70	39,1	67,6	32,4	0,8863 á 0,8873	0,8852 á 0,8857	1,3633
75	29,5	73,4	26,6	0,8740 á 0,8745	0,8725 á 0,8730	1,3640
80	20,9	78,6	20,4	0,8604 á 0,8610	0,8589 á 0,8595	1,3648
85	13,3	86	14	0,8460 á 0,8466	0,8445 á 0,8451	1,3648
90	6,4	92,7	7,3	0,8303 á 0,8309	0,8288 á 0,8294	1,3645
95	0,0	100	0	0,8123 á 0,8131	0,8109 á 0,8117	1,3638

## *ANEXO 14*

**NORMA TÉCNICA EMPLEADA PARA LA PRUEBA DE ROTACIÓN ÓPTICA**

NORMAS TÉCNICAS (ITINTEC) LIMA PERU



NORMAS A CONSULTAR

ITINTEC 319.077 Aceites Esenciales. Preparación de la Muestra para Análisis

1.- OBJETO

- 1.1 La presente Norma establece el método de determinación del poder rotatorio específico y de la desviación polarimétrica de los aceites esenciales.
- 1.2 La determinación de la desviación polarimétrica se efectúa generalmente sobre el aceite esencial al natural y la determinación del poder rotatorio específico, sobre el aceite esencial diluido en un solvente.

2.- DEFINICIONES Y CLASIFICACION

2.1 Desviación polarimétrica de un aceite esencial.- Es el ángulo sobre el cual gira el plano de polarización de la luz cuando esta atraviesa cierto espesor de aceite esencial en condiciones determinadas. Por convención en la presente Norma, la desviación polarimétrica es aquella que se mide a través de un espesor de 1 dm, o a través de un espesor diferente convertido a 1 dm; dicha desviación se expresa en grados y minutos, temperatura conocida, generalmente 20°C y en relación a una longitud de onda de luz señalada. Esta dada por la expresión:

$$\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l}$$

Donde:

A es el ángulo de rotación observado, expresado en grados.

l es el espesor de aceite esencial, expresado en decímetros.

(\*) De esta expresión existe otra equivalente que es la rotación polarimétrica (referencia Bruhat). La desviación polarimétrica es, por otra parte, llamada impropriamente "poder rotatorio", expresión que es también utilizada como sinónimo de poder rotatorio específico, lo que da origen a numerosas confusiones.

31 OCT. 1988

2.1.1 Para facilitar los cálculos, la desviación polarimétrica y el poder rotatorio específico, puedan expresarse igualmente en grados y en centésimos de grado.

2.2 Podar rotatorio específico de un aceite esencial.- Es igual al ángulo sobre el cual rotaría el plano de polarización de la luz si esta atravesara un espesor de 1 dm de una solución convencional de aceite esencial que contuviera 1 g de sustancia activa por mililitro. Se expresa en grados y minutos, a una temperatura conocida, generalmente 20°C, y en relación a una longitud de onda de luz señalada. Está dado por la expresión:

$$\left[ \alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A \times V}{l \times p}$$

Donde:

- A es el ángulo de rotación observado, en grados.
- l es el espesor atravesado en decímetros.
- V es el volumen de la solución, en mililitros.
- p es el peso de la sustancia disuelta, en gramos.

### 3.- MÉTODOS DE ENSAYO

#### 3.1 Principio del método

Es la medida de la rotación del plano de polarización de la luz, a una longitud de onda definida, al atravesar un espesor determinado de aceite esencial. La longitud de onda es generalmente aquella correspondiente a la línea D del sodio.

#### 3.2 Aparatos

- 3.2.1 Polarímetro cuya precisión debe ser por lo menos igual a  $\pm 2$  minutos ó  $0,03^\circ$
- 3.2.2 Fuente luminosa: mecanismo que permita la obtención de luz monocromática de una longitud de onda de  $589,3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$ , correspondiendo sensiblemente a la línea D del sodio o de cualquier otra longitud de onda escogida.
- 3.2.3 Tubo de observación de longitud apropiada según la coloración del aceite esencial, por ejemplo:
  - L = 100 mm  $\pm$  0,05 mm para los aceites de coloración mediana.
  - L = 200 mm  $\pm$  0,05 mm para los aceites de coloración débil.
  - L = 50 mm  $\pm$  0,05 mm para los aceites de coloración intensa.

Los tubos de observación deben llevar de preferencia un dispositivo que permita la determinación de la temperatura.

En caso de que la medida deba efectuarse exactamente a 20°C en particular cuando el poder rotatorio específico o la desviación polarimétrica a medir son superiores a 35°C, el polarímetro o los tubos de observación deben estar en lo posible provistos de un sistema termostático, de manera de mantener la sustancia a la temperatura de 20°C  $\pm$  0,1°C durante todo el tiempo de la operación.

- 3.2.4 Termómetro de precisión que permita la lectura de temperaturas cercanas a 20°C o de aquellas indicadas en la Norma del producto.
- 3.2.5 Matraces aforados de precisión, con capacidad correspondiente a la del tubo de observación utilizado.

### 3 Procedimiento

- 3.3.1 Se prepara la muestra a ensayar según la Norma ITINTEC 319.077.
- 3.3.2 Se enciende el dispositivo de iluminación y se espera hasta obtener una buena luminosidad. Se regula el polarímetro con el tubo de observación vacío.
- 3.3.3 Para aceites esenciales al natural
  - 3.3.3.1 Se llena el tubo de observación con el aceite esencial que previamente debe haberse llevado a una temperatura de 20°C  $\pm$  1°C ó a otra temperatura especificada.
  - 3.3.3.2 Se debe asegurar que el tubo también esté a la misma temperatura del aceite esencial.
  - 3.3.3.3 Se verifica que no haya dentro del tubo ninguna burbuja de aire.
  - 3.3.3.4 Se coloca el tubo en el polarímetro y se mide la rotación polarimétrica dextrógira o levógira del aceite esencial.
  - 3.3.3.5 Se efectúan varias mediciones y se asegura que los resultados de tres muestras no difieran entre ellas en más de 5 minutos. Se calcula el promedio de estos tres resultados.
- 3.3.4 Para aceites esenciales en solución
  - 3.3.4.1 Se pesa con una precisión de 0,5 mg la cantidad de aceite esencial a analizar.
  - 3.3.4.2 Se coloca en un matraz aforado y se disuelve en el solvente apropiado indicado en la Norma correspondiente.
  - 3.3.4.3 Se coloca el matraz en un baño termostático a 20°C  $\pm$  1°C, se completa a volumen con el solvente y se homogeneiza.

3.3.4.4 Se continúa luego según lo indicado en 3.3.3.2

### 3.4 Expresión de resultados

#### 3.4.1 Para aceites esenciales al natural

3.4.1.1 Sea:

A el valor del ángulo de rotación expresado en grados y minutos.

l la longitud del tubo expresado en decímetros.

P el peso del aceite esencial a 20°C, en gramos por mililitro.

3.4.1.1.1 Los datos sobre constantes analíticas de los aceites esenciales  $d_{20}$  solo indican frecuentemente la densidad relativa  $d_{20}$ ; es posible en este caso deducir el peso con la ayuda de la expresión

$$\rho = 0,99843 \times d_{20}^{20}$$

3.4.1.2 La desviación polarimétrica expresada en grados y minutos está dada por la siguiente fórmula:

$$\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l}$$

3.4.1.3 El poder rotatorio específico expresado en grados y minutos está dado por la fórmula:

$$\left[ \alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l \times c}$$

3.4.1.4 Las desviaciones polarimétricas y los poderes rotatorios específicos dextrógiros o levógiros son afectados respectivamente del signo + y del signo - que preceden al valor numérico. Ejemplo:

$$\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = + 73^\circ 45' \quad \text{ó} \quad + 73,75^\circ$$

#### 3.4.2 Para aceites esenciales en solución

3.4.2.1 Sea:

A el valor del ángulo de rotación, expresado en grados.

l la longitud del tubo, expresado en decímetros.

V el volumen de la solución, en mililitros.

P el peso de la sustancia disuelta, en gramos.

3.4.2.2 El poder rotatorio específico, expresado en grados y minutos está dado por la expresión:

$$\left[ \alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A \times V}{l \times P}$$

### 3.5 Informe

3.5.1 El informe sobre el ensayo debe mencionar además de los resultados, todas las condiciones del ensayo (en especial la longitud del tubo empleado, el solvente y la concentración del aceite esencial en el solvente), los detalles operatorios no previstos en la Norma o facultativos, así como todos los incidentes susceptibles de haber influido sobre los resultados.